149/B

BULLETIN TRIMESTRIEL
DE LA

SOCIÉTÉ MYCOLOGIQUE DE FRANCE

•

Pour le progrès et la diffusion
des connaissances relatives
aux champignons

Reconnue d'utilité publique
par Décret du 20 Mars 1929

Tome LXXVII

Fascicule 3

1961

16, rue Claude Bernard - PARIS V^e^

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL

SOMMAIRE.

PREMIÈRE PARTIE.

G. Doguet. — Recherches sur le *Wawelia regia*. Morphologie et organogénie 197

P. Joly. — Recherches sur le *Thielaviopsis paradoxa-musarum* Mitch. 219

M^me^ Marcelle Le Gal. — Observations sur *Ciboria strobilina* (Alb. et Schw. ex Fries) Sacc. 229

J. Boidin et M. des Pomeys. — Hétérobasidiomycètes saprophytes et Homobasodiomycètes résupinés. IX. — De l'utilisation des critères d'interfertilité et de polarité pour la reconnaissance objective des limites spécifiques et des affinités 237

M^me^ M. Gabriel. — Recherches sur les pigments des Agaricales. V. — Troisième contribution à l'étude des pigments des Cortinaires des groupes *Sanguinei* et *Cinnamomei* (Elegantes Fries) 262

Cl. et M. Moreau. — Mesure de l'activité fongicide comparée de substances à structures chimiques voisines 273

DEUXIÈME PARTIE.

Procès-verbal de la séance du 3 juillet 1961 XXXI

Procès-verbal de la séance du 7 août 1961 XXXII

Procès-verbal de la séance du 6 septembre 1961 XXXIII

Publié le 20 décembre 1961.

RECHERCHES SUR LE *WAWELIA REGIA*. MORPHOLOGIE ET ORGANOGÉNIE,

par Gaston DOGUET.

Découvert par NAMYSLOWSKI en 1908 à Krakow (Pologne) sur excréments de lapins, le *Wawelia regia* a été retrouvé une cinquantaine d'années plus tard dans la même localité et sur le même substratum par B. GUMINSKA (1957). Ce très rare Pyrénomycète, aux périthèces développés sur un stroma dressé de couleur claire, a été placé par NAMYSLOWSKI dans les Hypocréales, entre les Mélanosporacées et les Nectriacées. Ses ascospores unicellulaires noires à fente germinative longitudinale étant semblables à celles des *Xylaria*, VINCENS (1918) a proposé de le ranger parmi les Xylariacées. VON ARX et MÜLLER (1954) ont d'abord adopté cette position et fait du *Wawelia* un synonyme du genre *Sarcoxylon* Cke., mais récemment, MÜLLER (1959) ayant étudié des exemplaires frais du champignon retrouvé à Krakow, a été conduit à modifier cette conclusion. Malgré ses stromas et ses ascospores, le *Wawelia* ne peut être une Xylariacée, car ses asques sont trop différents de ceux des représentants de cette famille. Ce sont des asques sans appareil apical différencié, à parois minces et fugaces, qui abandonnent leurs spores au sein de la cavité périthéciale, des asques plus proches de ceux des Mélanosporacées que de ceux des Xylariacées, et MÜLLER en conclut que le *Wawelia* doit être placé au voisinage des *Melanospora* comme l'avait proposé NAMYSLOWSKI.

Etant donnée l'importance accordée aujourd'hui à la morphologie de l'asque en systématique des Pyrénomycètes, cette conclusion est logique, mais il était intéressant de rechercher si d'autres faits pouvaient la confirmer. Nous avons donc entrepris l'étude organogénique des périthèces du *Wawelia* afin de comparer leur type de développement à celui, déjà connu, des Mélanosporacées, des Xylariacées et des Nectriacées. La souche que nous avons utilisée a été isolée à partir d'exemplaires développés sur crottes de lapins qui nous ont été adressés par B. GUMINSKA; il s'agit donc exactement du même champignon que celui qui a été examiné par MÜLLER. Dans une note

antérieure (Doguet, 1960), nous avons précisé les conditions de germination des ascospores et d'obtention des périthèces, et décrit les divers aspects des cultures sur différents milieux nutritifs. La présente publication est consacrée essentiellement à la morphologie du champignon et à son développement.

Etude morphologique.

Mycélium. — Sur les milieux nutritifs gélosés, les hyphes sont minces (2 à 3 μ), cloisonnés, hyalins. Leurs parois ainsi que leurs cloisons transversales se colorent intensément en bleu par le bleu coton acétique, surtout dans les parties âgées ; il est possible qu'elles soient de nature callosique.

Forme conidienne (Fig. 1). — Namyslowski (1908) l'avait déjà observée et décrite. Les conidiophores se développent le long des hyphes aériens, sur les stromas et sur les périthèces, plus ou moins abondamment selon le milieu de culture utilisé ; souvent, la partie fertile des stromas en est couverte, et ils forment alors un duvet serré de couleur jaune. Ce sont des filaments peu distincts des hyphes végétatifs, ramifiés de façon quelconque, cloisonnés. Leur extrémité s'amincit puis s'enfle en une première conidie qu'un étranglement annulaire sépare du conidiophore. Puis, un peu au-dessous, le conidiophore reprend sa croissance, rejette la première conidie sur le côté, en émet une seconde un peu plus loin, et le phénomène recommence. L'examen direct d'une culture permet de voir 7 à 8 conidies sur chaque ramification, mais elles se détachent aisément et, dans les préparations microscopiques, seules les plus jeunes demeurent en place ; une petite dent marque l'emplacement des autres. Ce sont des cellules hyalines, ovales, de 3 μ × 5-6 μ environ, uninucléées.

Stromas. — La forme et la taille des stromas dépendent essentiellement du milieu nutritif utilisé. Parfois, comme sur les crottes de lapins, ils peuvent être simples, cylindriques, hauts de 5 à 10 mm, amincis à l'extrémité. Ailleurs, au contraire, ils sont ramifiés en tous sens, tantôt globuleux, tantôt aplatis.

Lorsqu'un Pyrénomycète forme ses périthèces sur ou dans un stroma, il est important de savoir comment celui-ci naît et s'accroît. Souvent, lorsqu'un fragment de stroma ou de culture a servi à l'ensemencement, les nouveaux stromas du *Wawelia* ne se forment que sur ce fragment, pressés les uns contre les

autres ; il est alors très difficile d'étudier les premiers stades de leur développement. L'étude est beaucoup plus aisée lorsque les stromas naissent directement du mycélium, à quelque distance du point d'ensemencement. Dans ce cas, l'observation directe, avec ou sans dilacération, et l'examen de nombreuses coupes longitudinales colorées à l'hématoxyline, prouvent qu'il n'existe aucun organe particulier, pouvant être interprété comme un ascogone, à l'origine d'un stroma. En un point quelconque de la culture, les filaments mycéliens qui croissent dans le milieu nutritif, parallèlement à sa surface, se ramifient abondamment ; puis les ramifications se dressent perpendiculairement au milieu, s'entremêlent, et le jeune stroma s'élève dans l'air. Les hyphes qui le composent ont d'abord des parois minces et un cytoplasme riche, surtout au sommet, zone de croissance active. Leurs cellules s'allongent ensuite et augmentent considérablement de diamètre, certaines pouvant atteindre finalement 50 μ de longueur et 10 μ de calibre, tandis que leur cytoplasme s'appauvrit et que leurs parois s'épaississent, dépassant souvent 1 μ. Elles restent cependant en communication les unes avec les autres, d'une part au niveau des cloisons transversales des hyphes, toujours percées d'un pore central, d'autre part le long des hyphes en contact, grâce à de très fins canalicules traversant les deux membranes, noirs après coloration à l'hématoxyline, éléments rappelant les plasmodesmes des végétaux supérieurs. Seuls les hyphes les plus externes conservent le plus souvent une structure normale.

La croissance en longueur du stroma est vraisemblablement due à la fois à la multiplication des cellules de son extrémité et à leur allongement ultérieur. La croissance en épaisseur provient surtout de l'augmentation du diamètre des hyphes, presque tous orientés parallèlement à son axe. Ceux de la périphérie demeurant étroitement soudés les uns aux autres, une cavité longitudinale d'origine schizogène se forme généralement dans le stroma âgé.

Périthèces. — Compacte, souvent dure, la masse du stroma ne permet pas la recherche directe des ébauches périthéciales ; il est nécessaire d'utiliser les coupes à la main. Les très jeunes périthèces, situés généralement à la périphérie du stroma sous deux ou trois couches de cellules, parfois plus profondément, sont des pelotons denses d'hyphes très fins, ayant tous même aspect. Nous n'avons jamais vu, dans les plus petits, de cellule distincte des autres par sa forme ou par sa taille.

Les périthèces adultes sont extérieurs au stroma dont ils recouvrent presque toujours la partie médiane, rarement l'extrémité. Ils peuvent être serrés ou épars, très apparents ou cachés par les conidiophores lorsque ceux-ci sont abondants. Sphériques, de 250 à 400 µ de diamètre, de couleur sombre, ils sont pourvus d'un col très court dont les éléments terminaux s'allongent en soies divergentes entre lesquelles, à maturité, viennent s'accumuler les ascospores. Des périphyses garnissent le canal du col.

Paraphyses et asques. — La cavité périthéciale est entièrement tapissée par un hyménium composé d'asques et de paraphyses. Les paraphyses (Fig. 2) naissent du plectenchyme sous-hyménial, isolées ou groupées par deux sur une cellule basale. Elles sont larges (jusqu'à 10 µ) sauf à leur extrémité qui demeure effilée, longues de 100 à 120 µ, à parois très minces, divisées par trois à cinq cloisons transversales. Seule leur cellule terminale renferme un cytoplasme assez riche ; une grande vacuole contenant de nombreux corpuscules animés d'un intense mouvement brownien occupe le centre des autres.

Les filaments ascogènes, au cytoplasme très appauvri, circulent entre les bases des paraphyses avec lesquelles on ne peut les confondre car leur calibre est beaucoup plus faible. Ils portent latéralement les asques qui, au niveau de leur insertion, présentent le V caractéristique de leur origine à partir de la cellule médiane d'un crochet. Dans les régions les plus jeunes de l'hyménium, on retrouve aisément ce crochet (Fig. 3) ; sa cellule terminale s'anastomose avec son pédicelle, et l'élément ainsi constitué fournit aussitôt un nouveau crochet. Le phénomène se répétant, l'hyphe ascogène s'allonge, portant latéralement les cellules médianes des crochets successifs ; seule, son extrémité renferme un cytoplasme très dense. Quant aux cellules médianes, elles se transforment en asques, ou fournissent un nouveau crochet, d'où une ramification de l'hyphe ascogène.

A maturité, les asques cylindriques mesurent 55-80 µ × 7-8 µ (Fig. 4). Leur paroi, d'épaisseur fort variable, atteint parfois 1 µ. Dans l'eau, la tunique externe ne se distingue pas de l'interne, mais après action du vert Janus, elle apparaît comme un mince liseré bleu, plus épais au sommet. L'appareil apical ne comporte ni anneau ni nasse ; il est réduit à un épaississement annulaire de la tunique interne en un dôme apical plus ou moins développé qui se colore légèrement en bleu par le bleu coton acétique (Fig. 5).

Ascospores. — Les ascospores normales sont ellipsoïdes, parfois presque globuleuses, de couleur noire, et présentent une fente germinative longitudinale qui va d'un pôle à l'autre.

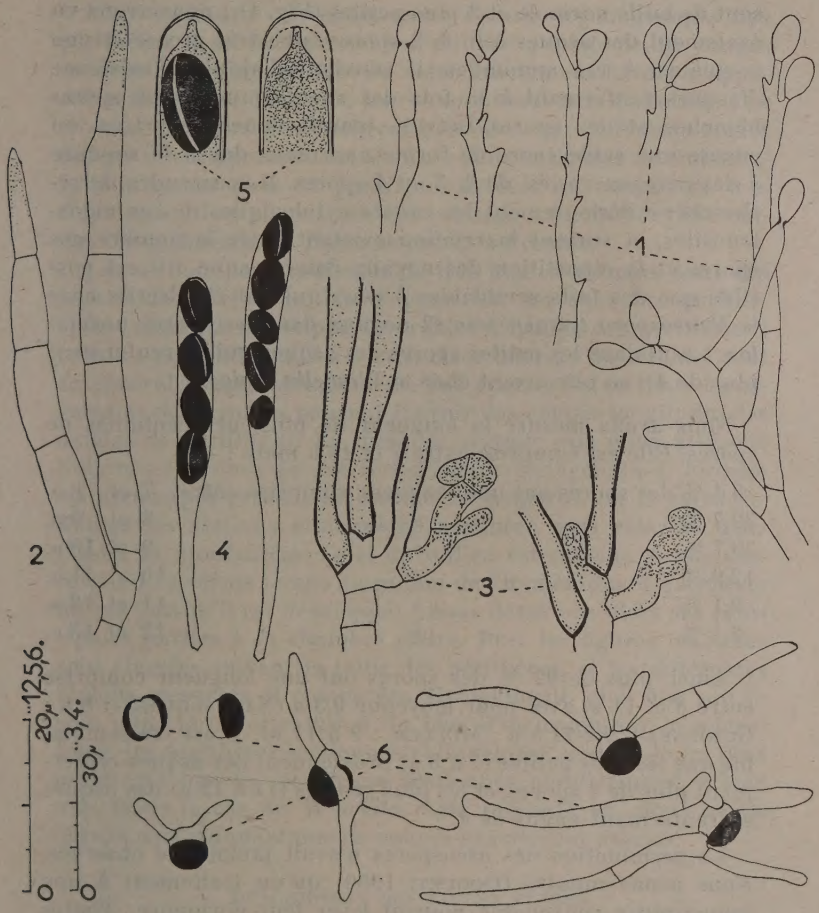


Fig. 1. — Formation des conidies ; divers aspects des conidiophores.
Fig. 2. — Paraphyses.
Fig. 3. — Hyphes ascogènes ramifiés, avec crochets et bases d'asques développés.
Fig. 4. — Asque normal, tétrasporé, et asque à 5 spores, dont 2 plus petites.
Fig. 5. — Aspect du sommet de deux asques, avec dôme apical net.
Fig. 6. — Germination des ascospores.

Généralement, chaque asque en renferme quatre disposées sur un rang, mais des anomalies dont la fréquence semble dépendre du milieu de culture utilisé peuvent modifier ce nombre. Il n'est pas rare de rencontrer des asques à 5 spores dont 3 sont de taille normale et 2 plus petites (Fig. 4) ; nous avons vu également des asques à 6, 3, 2 spores (une très grosse et une normale). A ces anomalies, il convient d'ajouter l'existence d'asques renfermant à la fois des spores mûres, des spores blanches et des spores flétries, manifestement avortées, ou encore une seule spore de forme anormale, due à la soudure à des niveaux variés, de 2, 3 ou 4 spores. Il conviendra de rechercher ultérieurement les causes cytologiques de ces monstruosités, et surtout la relation existant entre le nombre des spores et la répartition des noyaux dans l'asque : il est possible que des faits semblables à ceux qui ont été décrits chez le *Neurospora tetrasperma* (2 noyaux dans les spores normales, 1 seul dans les petites spores des asques qui en renferment plus de 4), se retrouvent chez le *Wawelia regia*.

Nous avons mesuré la longueur de plusieurs centaines de spores. Elle est comprise entre 7 et 13 µ mais :

3,4 %	des spores ont une longueur comprise entre	7 et 8 µ,
39,7 %	»	8 et 9 µ,
39,7 %	»	9 et 10 µ,
12,9 %	»	10 et 11 µ,
2,1 %	»	11 et 12 µ,
2,1 %	»	12 et 13 µ.

Ainsi, plus de 92 % des spores ont une longueur comprise entre 8 et 11 µ, avec pour moyenne 9,3 µ (Namyslowski : 8 µ ; Guminska : 9,2-11,5 µ ; Müller : 9 à 11 µ). Il est vraisemblable que les plus petites (7 à 8 µ) proviennent des asques renfermant plus de 4 spores, et les plus grosses (11 à 13 µ) des asques en renfermant moins de 4.

La germination des ascospores n'avait jamais été observée. Nous avons montré (Doguet, 1960) qu'un traitement à une température convenable pouvait lever leur dormance. Toutes germent en deux temps (Fig. 6). D'abord, leur contenu double sensiblement de volume et les lèvres du sillon longitudinal s'écartent considérablement, découvrant la masse sphérique du cytoplasme entourée d'une membrane hyaline très mince (stade ampoule). Puis cette masse émet 2, 3 ou 4 hyphes qui, très rapidement, se cloisonnent.

Organogénie des périthèces.

Méthode.

Pour conduire convenablement l'étude organogénique des périthèces, il est indispensable d'utiliser la méthode des coupes en série qui, seule, permet de noter exactement l'ordre d'apparition des divers éléments, leurs rapports et leur évolution. Des stromas porteurs de périthèces parvenus aux différents stades de leur développement ont été fixés dans le liquide de Duboscq-Brasil, inclus dans la paraffine, débités en coupes de 5 μ d'épaisseur. Les coupes ont été colorées à l'hématoxyline suivant la technique de Heidenhain, et à l'éosine.

Les sections longitudinales de très jeunes stromas nous ont permis de préciser le lieu d'apparition des ébauches périthéciales, mais elles sont peu favorables à l'étude des périthèces ; ceux-ci, perpendiculaires à la surface latérale du stroma, sont en général coupés obliquement. Par contre, les sections transversales des stromas peuvent fournir des coupes longitudinales axiales de périthèces. La méthode d'étude que nous utilisons toujours au cours de nos recherches organogéniques, lorsque les ascocarpes présentent un axe de symétrie, est la suivante. Toutes les sections d'un même périthèce sont relevées dans l'ordre et numérotées. Celle du milieu est retenue si elle correspond en même temps au milieu de l'hyménium et au milieu du col (lorsqu'il est développé) ; nous dessinons alors ses principales parties à la chambre claire. Puis les figures obtenues sont classées suivant la taille des périthèces, et les différentes régions mesurées et comparées. Evidemment, quel que soit le soin apporté à l'orientation du bloc d'inclusion sur le microtome, les périthèces sectionnés obliquement sont toujours plus nombreux que les périthèces sectionnés parallèlement à leur axe. Dans le cas du *Wawelia regia* présenté ici, nous avons obtenu une cinquantaine de coupes exactement axiales.

Description des divers stades.

Les plus petites ébauches rencontrées (fig. 7 et 8, coupes longitudinales du stroma ; 9 et 10, coupes transversales), d'un diamètre de 5 à 10 μ, se présentent toujours sous la forme d'un peloton d'une dizaine de cellules larges de 1 à 2 μ, longues de 2 à 8 μ, au cytoplasme riche retenant fortement l'éosine, à 1, 2, ou plus rarement 3 noyaux très chromatiques, plus

volumineux que ceux des cellules voisines du stroma. Aucune de ces cellules ne se distingue des autres par un caractère particulier permettant de l'assimiler à un ascogone. Il est souvent très difficile de préciser si elles appartiennent à un seul hyphe ou à plusieurs. Quand l'ébauche est très petite, elle n'en comprend certainement qu'un seul, mais quand elle atteint 10 μ, les ramifications de cet hyphe ne peuvent plus être distinguées des éléments d'un autre filament qui pourrait s'être joint au premier.

L'origine de la plupart des ébauches se situe près de l'extrémité du stroma, dans cette région d'active croissance où les filaments mycéliens, en général parallèles les uns aux autres, ont sensiblement même calibre que les cellules des pelotons. Un peu plus tard, ces derniers conservent leur aspect initial alors que les cellules du stroma s'allongent, s'élargissent et épaississent leurs membranes ; ainsi différenciées, il est peu probable qu'elles émettent de nouvelles ébauches. Cependant, à la surface du stroma, demeurent quelques couches de cellules à parois minces qui fournissent des conidiophores ; il est possible, au moins au début, qu'elles donnent également naissance à des périthèces. Rapidement, leurs membranes se chargent d'un pigment sombre sans s'épaissir de façon notable.

Dans les jeunes stromas bien développés, les ébauches se rencontrent à tous les niveaux, jusqu'à 50 μ de la surface libre, mais elles sont plus nombreuses à faible profondeur.

Légendes des Fig. 7 a 16.

Fig. 7 et 8. — Ebauches périthéciales dans une coupe longitudinale d'un stroma.

Fig. 9 et 10. — Ebauches dans une coupe transversale.

Fig. 11. — Ebauche de 30 μ de diam., composée de deux types d'hyphes, ceux de la périphérie étant à cytoplasme moins riche.

Fig. 12. — (40 μ) même aspect, mais plectenchyme périphérique plus développé.

Fig. 13. — (50 μ) les cellules centrales du plectenchyme enveloppant les cellules fertiles, deviennent polyédriques et se vacuolisent ; celles du pourtour demeurent aplaties.

Fig. 14. — (70 μ) les différences s'accentuent entre le centre et la périphérie du plectenchyme.

Fig. 15 et 16. — (140 et 170 μ) développement important, autour des cellules fertiles, du plectenchyme aux éléments polyédriques vacuolisés ; les cellules périphériques aplaties sont maintenant bien distinctes.

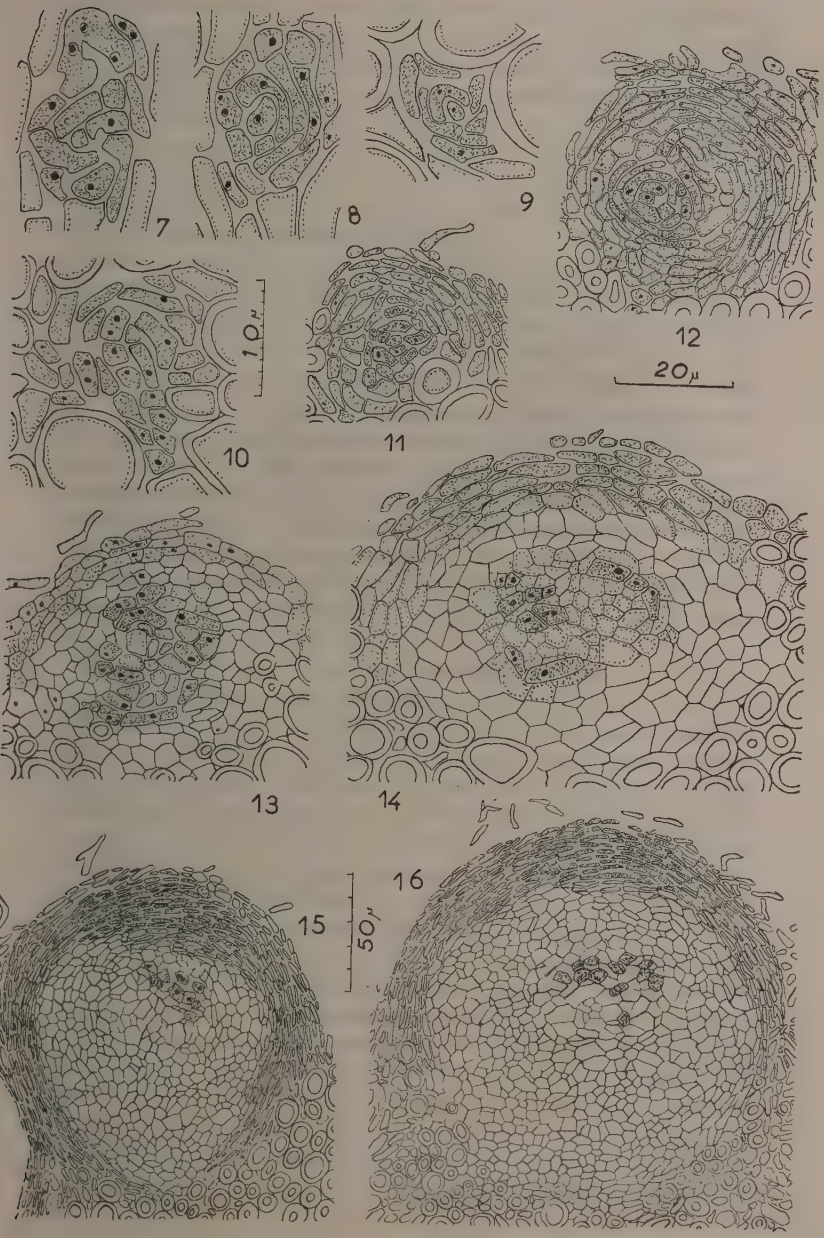


Fig. 7 à 16.

Les ébauches de 20 à 25 μ de diamètre comprennent deux types de cellules : celles du centre renferment un cytoplasme très riche et un ou deux gros noyaux, celles de la périphérie, allongées tangentiellement, un cytoplasme souvent un peu moins riche et un, parfois deux noyaux beaucoup plus petits. Les secondes proviennent sans doute des premières car, à ce stade, il n'existe pas de séparation nette entre les deux alors que les éléments du stroma environnant, bien différenciés, de grande taille, présentent déjà leurs membranes épaisses. Quand le massif cellulaire soulève les couches périphériques et fait saillie hors du stroma, il est possible que des hyphes superficiels viennent s'y ajouter, mais leur apport est certainement très réduit. Pratiquement, l'ensemble du jeune périthèce provient du peloton décrit au début, et non du stroma.

L'ébauche grandit, et les différences entre les cellules centrales et celles qui les enveloppent s'accentuent. Celles du centre conservent leur cytoplasme dense et leur gros noyau ; elles augmentent légèrement de volume, mais ne se multiplient pas car, sur les coupes médianes, on en compte toujours 10 à 16 ; certaines, contiguës, font manifestement partie du même hyphe. Etant donné qu'il est possible de les suivre jusqu'à la formation des asques, nous pouvons dès maintenant les appeler « cellules fertiles ». Les cellules stériles qui les enveloppent, au contraire, se multiplient dans la région périphérique où elles demeurent étroites et allongées, augmentent de volume, se vacuolisent et deviennent polyédriques vers le centre, d'où une augmentation générale de la taille de l'ensemble. Les figures 11, 12, 13 et 14, dessinées à la même échelle, représentent cette phase du développement ; les ébauches correspondantes ont respectivement pour diamètre 30, 40, 50 et 70 μ.

La même évolution se poursuit jusqu'à ce que le périthèce ait atteint 180 μ de diamètre. Les éléments périphériques forment 6 à 8 couches de cellules aplaties, notamment dans la région située hors du stroma ; leur cytoplasme est souvent plus riche au sommet du périthèce, principale zone de multiplication cellulaire. Le plectenchyme sous-jacent augmente régulièrement d'épaisseur, et les éléments fertiles, encore peu nombreux, se trouvent peu à peu soulevés au-dessus du stroma de façon telle que les plus proches en sont toujours à une distance sensiblement égale à la moitié de la hauteur totale du périthèce. Le tableau suivant rend compte de cette évolution dans le cas de six périthèces.

D	h	HS	P	L
85	75	40	10	30
100	90	40	10	30
130	150	70	20	35
140	140	70	20	30
150	140	70	20	60
170	160	80	20	50

D et h : diamètre et hauteur du périthèce ;
HS : distance cellules fertiles-stroma ;
P : épaisseur de la couche externe, aux cellules aplaties ;
L : diamètre du disque de cellules fertiles (distance entre les cellules fertiles extrêmes, mesurée sur une droite perpendiculaire à l'axe du périthèce).

Les figures 15 et 16 correspondent aux périthèces de 140 et 170 µ de diamètre. Notons enfin que, sous les cellules fertiles et entre elles, se développe un petit massif aux cellules très vacuolisées (il forme une tache claire sur les coupes), aux membranes très minces. Nous pensons qu'il provient à la fois du plectenchyme qui fournit les éléments nutritifs aux cellules fertiles, et des hyphes fertiles eux-mêmes qui s'allongent en ne conservant un cytoplasme riche qu'à leurs extrémités ; cependant, nous ignorons si, à ce stade, des crochets ascogènes sont déjà formés.

Lorsque le jeune périthèce atteint environ 180 µ de diamètre, les hyphes des couches périphériques situés à son sommet amorcent une croissance très active en direction de l'axe qui, dès lors, apparaît nettement sur les coupes, mis en relief par leurs cellules étroites et allongées, au cytoplasme extrêmement dense. Cette croissance orientée a une conséquence immédiate : chaque hyphe s'allongeant alors que son extrémité vient buter, au niveau de l'axe, sur les extrémités des autres hyphes, il se produit un soulèvement général de tout le sommet du périthèce et l'ouverture d'une cavité sous la zone de croissance, au-dessus de la lame de cellules fertiles. Cette cavité augmente peu à peu de dimension, mais elle est remplie, à mesure qu'elle s'agrandit, par des hyphes à larges cellules vacuolisées issus du plectenchyme situé sous la lame des cellules fertiles, qui croissent perpendiculairement à celle-ci. Ce sont les paraphyses ; seule, leur cellule terminale renferme un cytoplasme assez riche.

A partir de ce stade, nous avons noté deux évolutions possibles suivant l'origine des cultures.

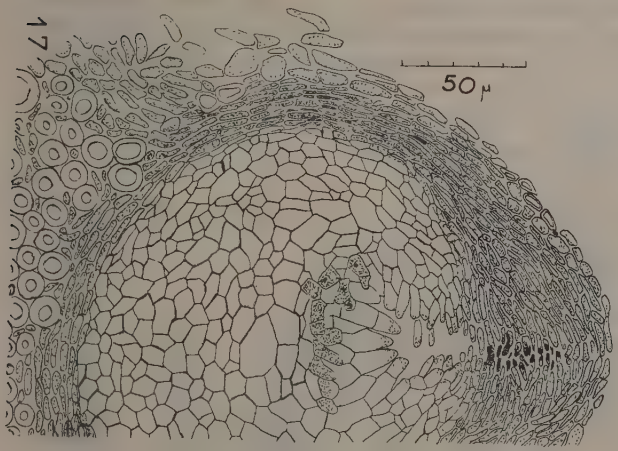
Lorsque les stromas se sont développés sur crottes de lapins, la cavité s'agrandit rapidement en même temps que l'ensemble du périthèce. L'augmentation de ses dimensions est due au fait que le plectenchyme qui la limite cesse de s'épaissir (périthèces de 210 à 280 μ de diamètre) puis diminue (périthèces de 300 à 340 μ de diamètre). Simultanément, les cellules fertiles émettent les hyphes ascogènes qui s'étendent peu à peu le long des parois en remontant vers l'ostiole. Les paraphyses continuent à se développer, toujours perpendiculairement aux hyphes ascogènes et seulement à leur niveau. La cavité s'agrandit plus vite qu'elles s'allongent et, progressivement, un vide s'étend sous l'ostiole.

Lorsque les stromas se sont développés sur gélose nutritive (maltéa), la cavité ne s'agrandit que plus tard. Le périthèce augmente considérablement de volume (mesures effectuées sur des coupes axiales de périthèces de 180 à 380 μ de diamètre), mais le plectenchyme et la paroi continuent d'abord à s'épaissir. Alors que, dans le cas précédent, la distance qui sépare les éléments fertiles du stroma, mesurée sur l'axe, est au plus de 90 μ, elle atteint ici jusqu'à 150 μ. Ensuite seulement, la cavité s'agrandit, moins par croissance du périthèce que par diminution progressive de l'épaisseur du plectenchyme qui la limite, diminution due à la disparition des cellules situées sous l'hyménium, qui se vident au profit des hyphes ascogènes et des paraphyses. Ces faits sont illustrés d'une part par les figures 17 (périthèce développé sur gélose), 18 et 19 (sur crottes de lapins), d'autre part par les dimensions, indiquées dans le tableau suivant, des régions essentielles d'une vingtaine de coupes axiales de périthèces.

Quelle que soit l'origine des périthèces, la fin de l'évolution est toujours la même : le plectenchyme disparaît peu à peu, et la cavité s'étend finalement à tout l'espace limité par la paroi périthéciale aux cellules aplaties et aux membranes légèrement épaissies. Les asques s'allongent entre les paraphyses et commencent à fournir des spores bien avant la fin de cette évolution.

Schématisation et interprétation du développement.

Le développement des périthèces du *Wawelia regia* peut être suivi sur la figure 20 qui représente, dessinées à la même échelle, les coupes longitudinales axiales schématisées de périthèces parvenus aux stades successifs de leur évolution. Les



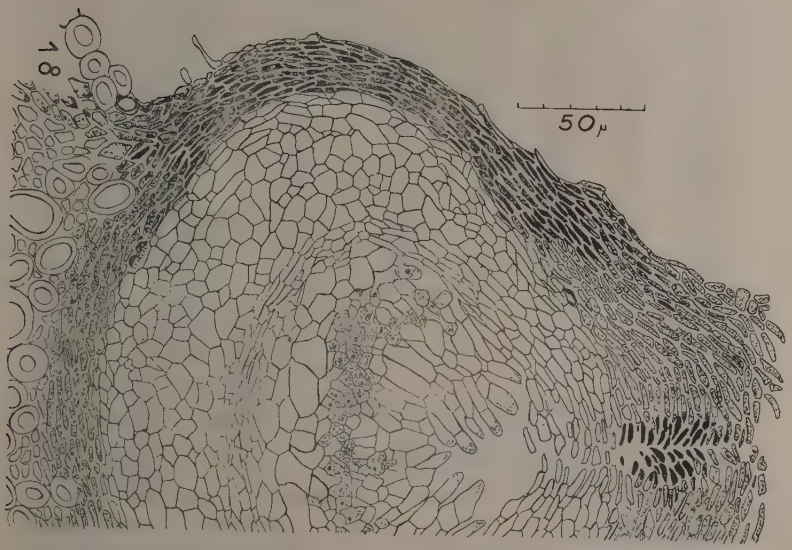


Fig. 17. — (210 µ) les hyphes situés au sommet du périthèce s'allongent, d'où apparition d'une cavité au-dessus du massif ascogène ; les paraphyses commencent à s'allonger à l'intérieur.

Fig. 18. — (280 µ) l'activité apicale se poursuit ; l'hyménium s'étend ; le plectenchyme sous-hyménial commence sa régression ; les paraphyses se multiplient et s'allongent dans la cavité.

hachures entrecroisées obliques correspondent au stroma et le quadrillage au plectenchyme nourricier. Le peloton initial et le massif des cellules fertiles sont noirs ; la paroi périthéciale a été laissée en blanc. Les flèches indiquent le sens de la croissance des hyphes du sommet du périthèce, celui des paraphyses et enfin celui des asques (flèches épaisses du dernier schéma).

D	h	HS	P	Pl	L	C	Col
				Sur crottes de lapins :			
210	220	85	20	65	90	75	80
220	240	90	20	70	80	70	70
250	300	80	15	65	150	150	120
260	310	75	15	60	210	150	120
280	270	90	20	70	130	100	80
300	300	65	20	45	370	190	100
300	320	40	20	20	320	240	120
340	360	55	20	35	480	270	110
				Sur gélose nutritive :			
180	160	80	20	60	50	0	0
190	200	110	20	90	50	0	0
210	210	100	20	80	50	40	80
240	240	100	20	80	100	90	60
260	230	110	25	85	70	60	70
260	280	150	30	120	60	45	70
280	320	125	25	100	120	100	110
290	330	130	30	100	150	100	110
300	310	140	30	110	100	70	100
310	310	120	30	90	110	80	110
310	330	120	30	90	160	100	120
320	320	120	25	95	150	110	120
340	320	140	40	100	140	100	100
370	370	120	40	80	220	130	120
380	380	120	40	80	260	170	120

D, h, HS, P : voir le tableau précédent ;
Pl : épaisseur du plectenchyme sous-hyménial, suivant l'axe du périthèce ;
L : longueur de l'hyménium sur la coupe axiale ;
C : diamètre de la cavité, mesuré perpendiculairement à l'axe ;
Col : longueur du canal du col.

Aucun organe particulier, archicarpe ou ascogone, ne se trouve à l'origine des stromas ou des périthèces. Ceux-ci naissent à l'intérieur d'un stroma, généralement près de sa surface, et sont d'abord constitués par un hyphe enroulé en un peloton de moins de 10 μ de diamètre, aux cellules de faible calibre à cytoplasme dense, à 1, 2 ou plus rarement 3 noyaux (A). Cet hyphe se ramifie, le peloton augmente de volume et,

très rapidement, deux régions peuvent être distinguées dans l'ébauche périthéciale (B. C.). D'une part, un certain nombre de cellules conservent leur cytoplasme riche, se multiplient

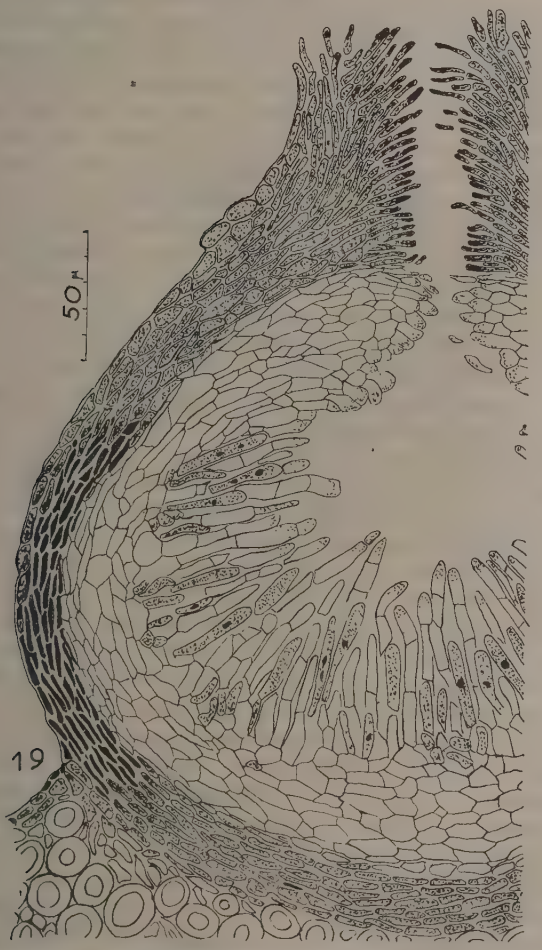


Fig. 19. — (300 µ) aspect d'un périthèce au moment de la croissance des asques entre les paraphyses ; le plectenchyme sous-hyménial est maintenant très réduit, la cavité périthéciale très vaste.

peu, et forment un petit massif discoïde central à partir duquel se développera plus tard l'hyménium. D'autre part, les hyphes qui enveloppent ce massif multiplient leurs éléments, four-

nissant un plectenchyme aux larges cellules vacuolisées dont la périphérie, aux cellules aplaties à cytoplasme demeuré momentanément plus riche, correspond à la future paroi périthéciale. La région de ce plectenchyme située sous le massif fertile, que, par commodité, nous pouvons déjà appeler sous-hyméniale, est un peu plus développée que la région sus-hyménale, et en continuité avec elle latéralement (D, E). L'ébauche augmente de volume et s'élève peu à peu sur le stroma en conservant la même structure. Lorsqu'elle atteint environ 180 μ de diamètre s'amorce une nouvelle phase du développement ; les hyphes de la paroi situés au sommet entrent en activité et croissent en direction de l'axe du périthèce. Cette croissance provoque la formation d'une petite cavité au-dessus du massif fertile (F), par séparation des éléments de la partie sus-hyméniale du plectenchyme au niveau de l'axe du périthèce. Le massif fertile repose sur le plancher de cette cavité, à la surface de la partie sous-hyméniale du plectenchyme qui émet alors des paraphyses. Celles-ci se frayent un passage entre les cellules fertiles encore inactives et s'allongent vers le haut parallèlement les unes aux autres. La croissance des hyphes apicaux se poursuivant, la cavité s'agrandit, tandis que les hyphes ascogènes émis par le massif fertile commencent à s'étaler le long de sa paroi en gagnant vers le haut, entre les bases des paraphyses dont le nombre augmente (G). Enfin, les asques se développent. Le plectenchyme sous-hyménial diminue alors d'épaisseur, car ses cellules se vident de leur contenu au profit des hyphes ascogènes, des asques, et probablement des paraphyses (H) ; son amincissement progressif entraîne une augmentation générale des dimensions de la cavité. A maturité, celle-ci, limitée presque uniquement par la paroi périthéciale, est en grande partie tapissée par l'hyménium ; la masse des ascospores sorties des asques en occupe le centre. Les paraphyses peuvent disparaître, vidées à leur tour. Pendant que le plectenchyme nourricier fait place aux asques et aux spores, les hyphes apicaux fournissent un col très court au canal garni de périphyses ; les plus externes s'allongent et, s'écartant les uns des autres, deviennent les soies entre lesquelles viennent s'accumuler les ascospores.

Type de développement du *Wawelia regia*.

Au début de cette étude, nous avons montré comment, suivant l'importance accordée au stroma, aux ascospores ou aux asques, le *Wawelia regia* avait été rapproché soit des Xyla-

riaceae, soit des Melanosporaceae. Il est donc logique, après l'exposé des faits relatifs à l'évolution des périthèces du *Wawelia*, de comparer leur organogénie à celle de représentants de ces deux groupes.

Les *Melanospora* à hyménium étendu les plus typiques (*M. Zamiae* par exemple, Doguet, 1955), forment leurs périthèces suivant le type *Diaporthe* de Luttrell (1951, p. 50).

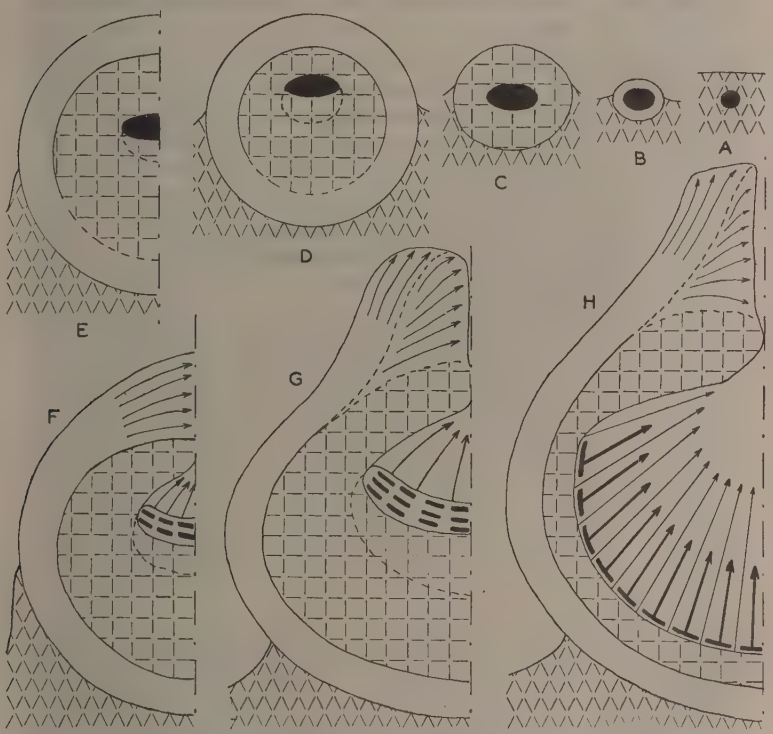


Fig. 20. — Schématisation du développement du périthèce du *Wawelia regia* (voir texte).

Des filaments issus du pédicelle d'un ascogone se ramifient intensément et fournissent une masse sphérique plectenchymateuse entourée de quelques couches de cellules différenciées qui constituent la paroi périthéciale. Celle-ci se divise en deux zones, dont l'interne est à l'origine du col : ses cellules situées au sommet du périthèce entrent en activité, s'allongent, se redressent, percent la zone externe, puis s'élèvent au-dessus

du corps périthécial, limitant un cylindre creux, le canal du col, dans lequel elles émettent les périphyses. Les éléments fertiles issus de l'ascogone forment d'abord une lame peu étendue, sensiblement équatoriale, qui sépare le plectenchyme central en deux parties, l'une sous-hyméniale et l'autre sus-hyméniale. Puis les asques se développent. Le plectenchyme sous-hyménial commence alors à se résorber, les cellules qui le constituent se vidant au profit des asques en voie de croissance, et l'hyménium se rapproche peu à peu de la base de la paroi périthéciale. En même temps, les asques s'élèvent dans le plectenchyme sus-hyménial en écartant ses cellules arrondies et vacuolisées qui disparaissent à leur contact. Par suite, pendant toute la période de maturation, les asques sont surmontés d'une calotte de plectenchyme qui ne pénètre pas dans le canal du col et se prolonge souvent en minces travées respectées par les asques jusqu'à l'hyménium (DOGUET, 1955, p. 33). Finalement, chez le *Melanospora Zamiae*, il ne reste presque rien des deux plectenchymes. A aucun moment, il n'y a eu formation de paraphyses.

Ce type *Diaporthe* de développement des périthèces a été rencontré chez plusieurs espèces, où il se présente d'ailleurs avec des variantes plus ou moins importantes. Certaines études manquent de précision et devront être reprises. Cependant, l'existence d'un plectenchyme compact (souvent appelé pseudoparenchyme) enveloppant complètement les cellules fertiles avant leur multiplication, la digestion de ce plectenchyme par les hyphes ascogènes et les asques au cours de leur croissance, l'absence de paraphyses, peuvent être retenues comme caractéristiques.

Le type *Xylaria* défini par LUTTRELL (1951, p. 58) est aujourd'hui mieux connu. Nous l'avons rencontré et précisé chez le *Coniochaeta ligniaria* (DOGUET, 1959) et chez l'*Epichloe typhina* (DOGUET, 1960). L'origine du périthèce varie dans le détail suivant les espèces (ascogone différencié plus ou moins tôt), mais le développement général est identique. Les éléments situés sous les cellules fertiles et latéralement émettent des hyphes qui se ramifient et convergent vers l'axe du périthèce au-dessus d'elles. Leur croissance provoque une augmentation régulière de la taille de l'ébauche et la formation précoce d'une cavité. Leurs extrémités, libres, occupent d'abord la position de périphyses au sommet du périthèce : puis, leurs ramifications se faisant toujours vers l'extérieur en s'éloignant de la base, les périphyses deviennent des paraphyses qui s'allongent

dans la cavité périthéciale. Les éléments fertiles, qui reposent soit sur un plectenchyme peu développé d'épaisseur constante, soit directement sur la paroi périthéciale différenciée, émettent les hyphes ascogènes. Ceux-ci demeurent localisés au fond de la cavité (cas de l'*Epichloe* et des Clavicipitaceae), ou s'étendent sur la plus grande partie de la paroi en gagnant vers le haut, entre les bases des paraphyses, d'où la formation d'un hyménium étendu (cas des *Xylaria*, du *Coniochaeta ligniaria*). Il n'existe donc pas de plectenchyme nourricier primaire important, développé avant la naissance des premières périphyses (cf Doguet, 1960, p. 189) ; presque toutes les paraphyses, parfois toutes, naissent à l'apex du périthèce en même temps qu'un plectenchyme secondaire dont les éléments externes se différencient et deviennent la paroi périthéciale.

Considérons maintenant le *Wawelia regia*. Jusqu'à l'entrée en activité des hyphes de la paroi qui fournissent le col, l'histoire de ses périthèces et de ceux des *Melanospora* (en particulier du *M. Zamiae*) est à peu près la même. Dans les deux cas, il existe à ce moment de l'évolution un massif discoïde plus ou moins étendu de cellules fertiles, en position sensiblement équatoriale au centre d'un plectenchyme que limite à l'extérieur la paroi périthéciale. La croissance vers l'axe du périthèce des hyphes de son sommet entraîne l'augmentation générale de sa taille et la formation du col mais, chez les *Melanospora*, elle ne produit pas de cavité : les cellules du plectenchyme s'élargissent, se vacuolisent davantage, des divisions augmentent peut-être leur nombre (nous n'en avons pas obtenu la preuve) et elles emplissent toujours l'ensemble du cœur du périthèce, séparées en deux zones, l'une sus- et l'autre sous-hyméniale. Ces deux zones entrent en régression quand les asques se développent. Chez le *Wawelia*, au contraire, la croissance apicale provoque l'ouverture d'une cavité qui communique avec le canal du col, juste au-dessus du massif ascogène ; il y a donc disparition mécanique précoce du plectenchyme sus-hyménial qui devient latéral. Puis l'extension des hyphes ascogènes s'accompagne de la régression du plectenchyme sous-jacent, et par suite, de l'agrandissement de la cavité à l'intérieur de laquelle s'allongent les paraphyses. Ainsi, les asques se développent, non dans un plectenchyme initial comme chez les *Melanospora*, mais entre les paraphyses issues de ce plectenchyme initial. Si la formation des ascocarpes du *Wawelia* est d'abord du type *Melanospora* (type *Diaporthe* de Luttrell), elle en diffère profondément à la fin.

A maturité, la structure des périthèces du *Wawelia* ressemble à celle des *Xylaria* ; dans les deux cas, la cavité périthéciale est alors tapissée d'un hyménium constitué d'asques et de paraphyses. Il est évident que cette ressemblance est l'aboutissement de deux évolutions totalement différentes, et que le type organogénique du *Wawelia* n'a rien de commun avec celui des *Xylaria*. En particulier, l'étude du développement prouve que les paraphyses du *Wawelia*, nées d'un plectenchyme primaire situé sous le massif ascogène, ne sont pas homologues de celles des *Xylaria*, nées secondairement à l'apex du périthèce au-dessus du massif ascogène, et périphyses avant d'être paraphyses.

Au terme de cette comparaison, il apparaît donc que le développement du *Wawelia* n'est ni du type *Xylaria*, ni du type *Diaporthe*. Cependant, c'est de ce dernier qu'il se rapproche le plus, car son début est identique, et nous le considérons comme un type dérivé du type *Diaporthe*, caractérisé par la substitution d'une cavité à la partie du plectenchyme située au-dessus des hyphes ascogènes, et par la croissance, dans cette cavité, de paraphyses issues de la partie sous-hyméniale du plectenchyme.

Conclusion : Place du *Wawelia* dans la classification.

La morphologie des asques et leur mode de déhiscence d'une part, la structure et le développement des ascocarpes d'autre part, sont aujourd'hui retenus comme bases de la systématique des Pyrénomycètes. Une importance moindre est accordée à la couleur et à la forme des stromas et des spores. Aussi, bien qu'il possède des ascospores semblables à celles des *Xylaria* et produise ses périthèces sur un stroma, le *Wawelia* ne peut être rangé parmi les Xylariaceae ainsi que le proposait Vincens (1918) ; l'absence de structure différenciée à l'apex des asques et le type organogénique entièrement différent s'y opposent. Nous sommes au contraire d'accord avec Müller (1959) pour le rapprocher des Melanosporaceae comme l'avait fait Namyslowski (1908). En effet, de même que les *Melanospora*, le *Wawelia* possède des asques à parois minces, sans appareil apical différencié libérant probablement leurs spores par gélification de leur membrane, et, autour de l'ostiole de ses périthèces, des soies entre lesquelles viennent s'accumuler les ascospores. De plus, le début du développement des périthèces, sensiblement le même, est du type *Diaporthe* dans

les deux cas. Pourtant, quelques caractères séparent nettement les deux genres. Müller a déjà relevé le fait que les asques sont cylindriques et non globuleux, sphériques ou ellipsoïdes, et montré qu'une relation du même type existait entre les genres *Ascotricha* et *Chaetomium*. Il convient d'ajouter que l'asque du *Wawelia* possède un rudiment d'appareil apical, sous la forme d'un dôme apical plus ou moins développé qui n'existe pas du tout chez les *Melanospora* ; il est donc de structure plus compliquée. De plus, au cours du développement des périthèces du *Wawelia*, il apparaît des paraphyses entre lesquelles, un peu plus tard, viennent s'allonger les asques ; l'organogénie du *Wawelia* est donc également plus complexe que celle des *Melanospora* chez lesquels rien de tel ne se produit. A ces différences s'ajoutent celles, mineures peut-être mais certaines, qui concernent le stroma et la structure de l'ascospore (fente germinative et non pores germinatifs), et il faut reconnaître que, si certains caractères permettent de rapprocher le *Wawelia* des Melanosporaceae, d'autres le placent très en marge de cette famille. Peut-être conviendrait-il de conserver la sous-famille des Waweliaceae que Namyslowski avait créée pour son Champignon.

Résumé.

L'étude morphologique détaillée du Pyrénomycète *Wawelia regia* est présentée, ainsi que l'étude organogénique de ses périthèces. Le développement, qui n'a rien de commun avec celui des *Xylaria*, peut être rapproché de celui des *Diaporthe*, et considéré comme un type dérivé du type *Diaporthe*, caractérisé par la substitution d'une cavité au plectenchyme sushyménial, et par la croissance dans cette cavité de paraphyses émises par le plectenchyme sous-hyménial. L'ensemble des observations faites permet de ranger le *Wawelia* près des Melanosporaceae.

Bibliographie.

Von Arx (J. A.) et Müller (E.). — Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten. *Beitrage zur Kryptogamenflora der Schweiz*, 1954, 11, 434 pp.

Doguet (G.). — Le genre *Melanospora*, Biologie, morphologie, développement, systématique. *Le Botaniste*, 1955, 39, p. 1-313.

Doguet (G.). — Organogénie du périthèce du *Coniochaeta ligniaria*. Comparaison avec l'organogénie des *Xylaria* et des Discomycètes angiocarpes. *Rev. de Myc.*, 1959, 24, p. 18-38.

Doguet (G.). — Morphologie, organogénie et évolution nucléaire de l'*Epichloe typhina*. La place des Clavicipitaceae dans la classification. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 1960, 76, p. 171-203.

Doguet (G.). — Recherches sur le *Wawelia regia*. Germination des spores et formation des périthèces. *Rev. Gén. de Bot.*, 1960, 67, p. 621-637.

Guminska (B.). — Repeated findings of the fungus *Wawelia regia* in Cracow. *Bull. de l'Acad. polonaise des Sc., Cl. II, Sér. des Sci. Biol.*, 1957, 5, p. 347-348.

Luttrell (E. S.). — Taxonomy of the Pyrenomycetes. *Univ. Missouri Studies*, 1951, 24, n° 3, p. 1-120.

Müller (E.). — Uber die Stellung der Ascomycetengattung *Wawelia*. *Acad. Répub. pop. romine ; Omagiu lui Traian Savulescu*, 1959, p. 515-518.

Namyslowski (B.). — Sur la structure et le développement du *Wawelia regia*, nov. subfam. gen. sp., *Bull. Acad. Sc. Cracovie*, 1908, p. 797-603.

Vincens (F.). — Valeur taxinomique d'une particularité de la structure des ascospores chez les Xylariacées. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 1918, 34, p. 101-109.

RECHERCHES SUR LE *THIELAVIOPSIS PARADOXA-MUSARUM* MITCH.,

par Patrick JOLY.

Décrit sur fruit d'Ananas par de Seynes (1886), le *Thielaviopsis paradoxa* (de Seyn.) v. Höhn. s'attaque en outre à divers autres végétaux, comme le Bananier, la Canne à Sucre, le Caféïer. Forme conidienne du *Ceratocystis paradoxa* (de Seyn.) Dade (1928), il en constitue le mode normal de fructification sur hampe de Bananier. Nous n'avons, jusqu'à présent, jamais observé le stade ascosporé sur le substrat naturel, et les confrontations réalisées en culture sont restées négatives. Il semble que toutes les souches isolées aient été de même signe, à moins qu'elles n'aient perdu leur aptitude à produire la forme parfaite.

Comparable morphologiquement aux isolements réalisés à partir de l'Ananas, le parasite du Bananier constitue, d'après Mitchell (1937), une forme biologique distincte, le *T. paradoxa-musarum,* non pathogène pour l'Ananas ; inversement, les souches obtenues à partir d'Ananas seraient peu actives contre les hampes de Bananier.

Croissance et progression du mycélium.

En culture pure, le *Thielaviopsis* envahit rapidement le milieu gélosé dont il dispose. Nous avons mesuré sa vitesse de croissance avec une technique utilisant des tubes à croissance continue : longs tubes (40 à 50 cm) horizontaux, de 1 cm de diamètre intérieur, soudés à une extrémité, coudés et fermés par un bouchon de coton à l'autre. Ils renferment un milieu gélosé à 2 % de maltea Moser, en quantité telle qu'il s'étale uniformément sur toute la longueur du tube, et sur une hauteur égale à la moitié du diamètre intérieur. Pour éliminer les erreurs dues à la durée de germination, on laisse les cultures pousser pendant 48 à 72 heures, jusqu'à ce que le front de croissance soit sensiblement rectiligne. On relève alors périodiquement la distance parcourue par le front de croissance.

Expérimentée sur de nombreux Hyphomycètes, cette méthode nous a montré que la vitesse de croissance linéaire est une constante remarquable, propre à chaque isolement et variant très peu à l'intérieur d'une même espèce.

Tous nos isolements de *T. paradoxa-musarum* possédaient, pour une température de 21-22°C, des vitesses de croissance comprises entre 898,4 et 944,3 μ/h. Par contre, celle d'une souche isolée d'Ananas n'était que de 539,0 μ/h, ce qui vient appuyer la thèse de Mitchell.

Dans les hampes des régimes et les pédoncules des fruits, que sa grande vitesse de croissance lui permet d'envahir rapidement, le *Thielaviopsis* vit essentiellement dans les tissus parenchymateux. Inter- ou intra-cellulaire, il traverse les cloisons par une perforation plus étroite que le diamètre des hyphes, qui montrent un rétrécissement à ce niveau (fig. 1, a). Désorganisées, les cellules s'affaissent (fig. 1, b), rapprochant les faisceaux fibro-vasculaires, ce qui réduit le diamètre de la hampe. Les faisceaux restent intacts, sans thyllose ni réactions de lignification. Ils sont cependant souvent obstrués par des amas bactériens.

Mode et déterminisme de la sporulation.

Le *Thielaviopsis* possède deux types de spores, produites suivant deux modes différents :

1) Des phialospores cylindriques, hyalines puis jaunes ou d'un brun très clair, à membrane simple, produites par des phialides (fig. 2, b) à paroi brun-clair, ventrues et souvent contournées à la base, prolongées par un très long col.

Légende de la fig. 1.

Fig. 1. — *Thielaviopsis paradoxa.*

a : hyphes mycéliens dans les cellules du parenchyme de la hampe ;
b : fragment de coupe transversale de hampe, dont les cellules du parenchyme, flétries, sont bourrées de macrospores ; les faisceaux fibro-vasculaires sont restés intacts ;
c : macrospores formées dans les cellules du parenchyme de la hampe ;
d : mise en évidence de la structure bivalve de la membrane des macrospores formées en culture par une souche isolée d'Ananas (réactif : SO_4H_2 + NO_3H + alun de chrome + sulfate d'aniline) ;
e : mise en évidence de l'épispore par attaque des membranes avec MnO_4K puis ClH (spores formées dans les cellules de parenchyme de hampe).

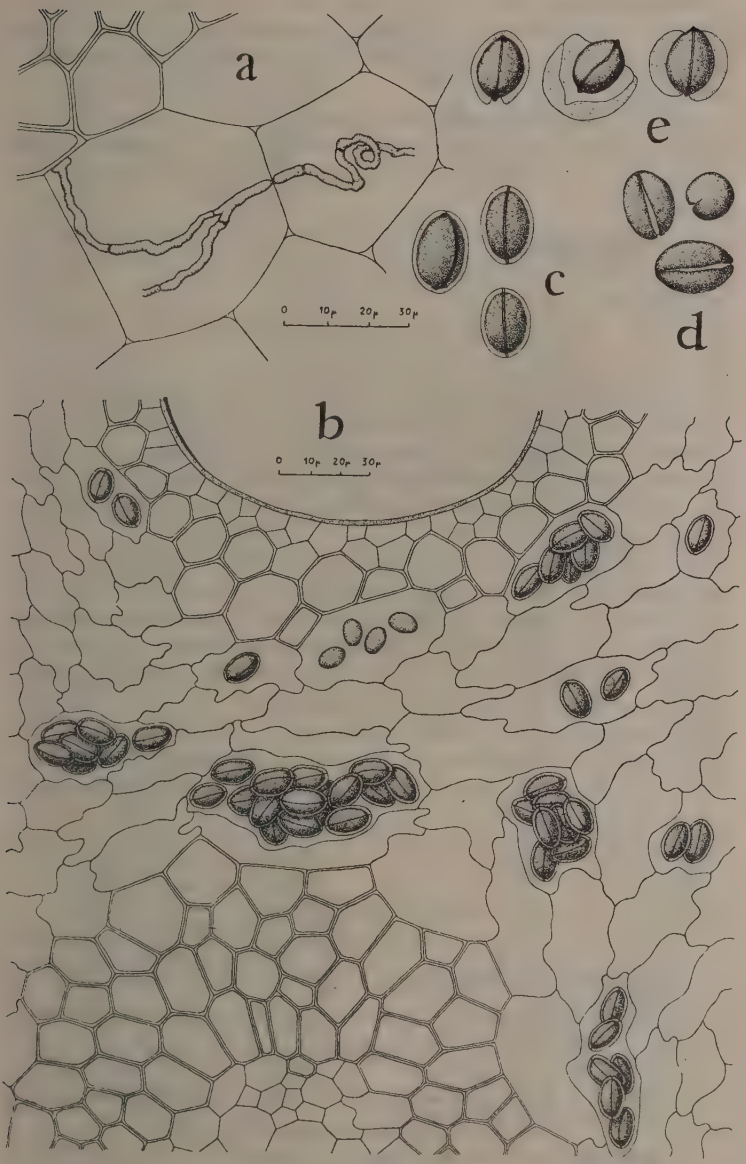


FIG. 1.

2) Des macrospores (fig. 1, b-c et fig. 2-a) ellipsoïdes, brunes, formées en chaînes à l'extrémité de conidiophores clairs. Elles possèdent une membrane complexe, à trois couches successives :

— une épispore, brun-clair à jaunâtre, lisse, épaisse, qui se gonfle et éclate sous l'influence de MnO_4K à 1 % suivi de ClH ½ (fig. 1, e) ; elle est plus mince chez les spores obtenues en culture ;

— une mésospore brune, très foncée, plus fine, composée de deux demi-coques à bords retroussés, accolées suivant un plan passant par le grand axe de la spore ;

— une endospore mince et hyaline, qui entoure le cytoplasme.

Schématiquement (fig. 2, f), la membrane comprend deux valves, dont la paroi fondamentale (épispore), épaisse et peu colorée, est tapissée intérieurement et à la suture par une couche mince et très foncée (mésospore). Accolés, les bords des deux demi-mésospores forment un double anneau autour de la spore (fig. 1, c-e).

Très visible sur les spores formées dans les cellules de parenchyme (fig. 1, b-c), cette structure se simplifie en culture (fig. 2, a) : l'épispore est moins épaisse, la mésospore peu ou pas retroussée à la suture, qui n'apparaît souvent que sous la forme d'une ligne plus ou moins visible. Mais on retrouve cette structure chez certaines spores immatures (fig. 2, a). Chez le *T. paradoxa* typique, isolé d'Ananas, la structure est encore plus simple : l'épispore et la mésospore sont pratiquement indistinctes l'une de l'autre, et le double anneau de la mésospore

---

Légende de la fig. 2.

Fig. 2. — *Thielaviopsis paradoxa.*

a : conidiophore et macrospores formés en culture par une souche isolée de hampe de Bananier ;

b : phialide et phialospores formées en culture par une souche isolée de hampe de Bananier ;

c : formation de macrospores à l'extrémité d'une phialide sous l'action d'un apport massif d'eau ;

d : formation de macrospores à l'intérieur d'une phialide sous l'action d'un apport massif d'eau ;
Geotrichum candidum.

e : mycélium et arthrospores formés en culture pure sur milieu à 2 % de maltea.

f : Coupe schématique d'une macrospore de *Thielaviopsis.*

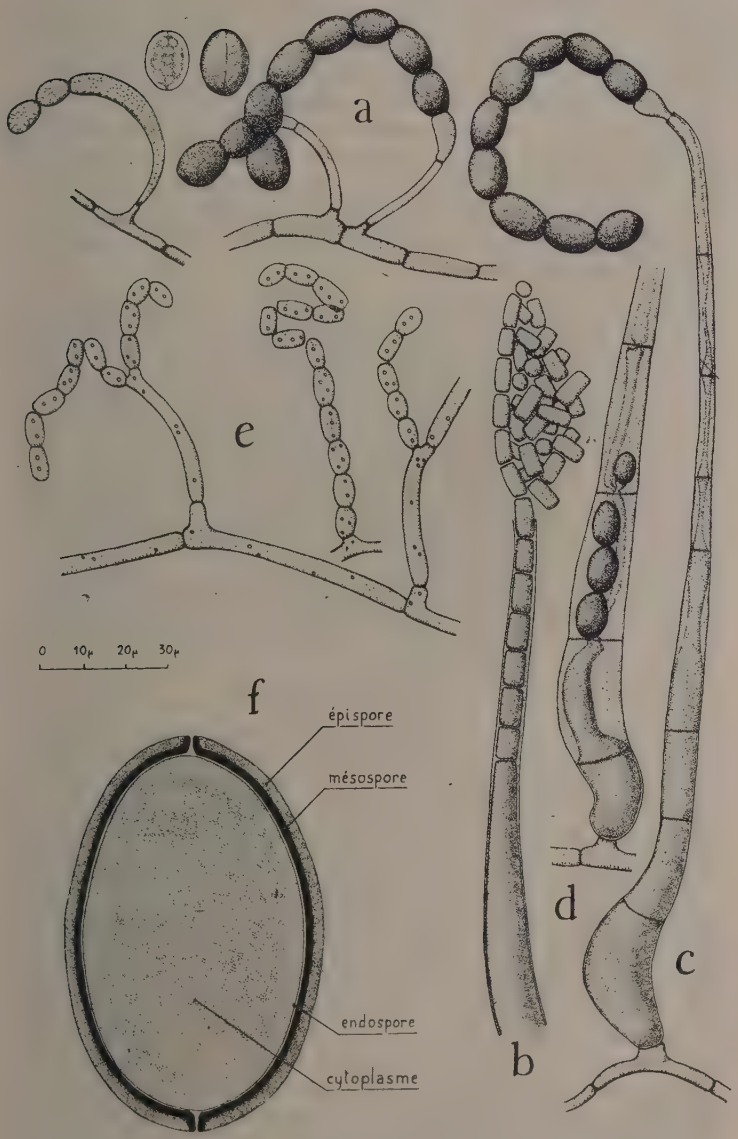

a
e
0 10µ 20µ 30µ
f
épispore
mésospore
endospore
cytoplasme
b
d
c

FIG. 2.

n'existe plus. La suture entre les deux valves est peu visible, ne formant plus qu'une mince ligne claire autour de la spore. Mais on peut la mettre en évidence en attaquant la membrane avec NH_4OH, ou mieux, avec un réactif acide composé de SO_4H_2 pur (25 ml), NO_3H pur (25 ml), alun de chrome (1 g) et sulfate d'aniline (1 ou 2 g), réactif qui fait apparaître en même temps la fusion presque complète de l'épi- et de la mésospore (fig. 1, d).

Ainsi simplifiée, la structure des membranes est comparable à celle que l'on trouve chez le genre *Papularia* et la tribu des *Bivalvae* de Mason (1933).

Il arrive, surtout chez les vieilles souches en culture, que certaines macrospores restent petites, avec des extrémités tronquées et une membrane faiblement colorée. Elles ressemblent à des phialospores qui, âgées, se colorent en jaune pâle et prennent une forme de tonnelet. Mais cette analogie d'aspect est tout à fait fortuite, et elles ont la valeur de macrospores. On ne peut pas les qualifier d'immatures, car elles germent très bien, et souvent mieux que les spores normales. Il est possible que l'on ait là une tendance vers une simplification encore plus poussée de la membrane sporale.

Ces deux types de fructification correspondent à deux modes de vie différents. Les macrospores naissent normalement en fin d'évolution de la maladie, à l'intérieur des cellules de parenchyme (fig. 1, b); bourrées de spores, ces cellules se désorganisent complètement, et l'intérieur de la hampe n'est plus alors constitué que des faisceaux fibro-vasculaires juxtaposés, sans cohésion latérale ; les fruits se détachent spontanément de la hampe, qui ne possède plus aucune homogénéité : le *Thielaviopsis* opère un véritable rouissage de la hampe. Les phialides, au contraire, forment des efflorescences blanches à la surface des vieux rachis envahis par le Champignon ; nous n'avons jamais trouvé de phialospores dans les cellules du parenchyme. Il est vraisemblable que l'on ait pu prendre des arthrospores de *Geotrichum candidum* Link pour des phialospores de *Thielaviopsis* formées à l'intérieur des cellules : dans les vieux tissus nécrosés, on ne trouve souvent que les spores isolées, les autres éléments du Champignon s'étant désagrégés. La distinction entre les spores isolées de ces deux organismes n'est généralement pas évidente (fig. 2, b-e). Dans les cas litigieux, nous avons isolé sur coupe, au micromanipulateur, quelques-unes des spores douteuses : les microcultures obtenues ont toujours produit du *Geotrichum*.

Les conditions hygroscopiques du milieu influent fortement sur le type de fructification produit. En culture sur milieu gélosé, les phialides se forment plus tard que les macrospores, lorsque le milieu s'est partiellement desséché. Dans les microcultures en goutte pendante dans une chambre à huile, les macrospores apparaissent dès les premiers jours de développement, à l'intérieur des gouttes de milieu. La formation des phialides est plus rare, mais l'émission des phialospores se fait dans l'huile, hors du milieu aqueux. Bien plus, on peut dévier expérimentalement la fonction d'une phialide : on prélève de jeunes phialides, ayant commencé à fonctionner, et on les place en goutte pendante dans une solution aqueuse. Si elles sont assez jeunes, le cytoplasme se développe, sort à l'extrémité et fonctionne en macroconidiophore (fig. 2, c). Dans ce cas, la phialide ne sert que de support et n'a plus aucune action sporogène. La preuve en est que si elle est plus âgée au moment du transfert, le cytoplasme vivant, plus réduit, produit ses macrospores à l'intérieur de la phialide (fig. 2, d). Ceci nous montre que, dans le cas du *Thielaviopsis*, la polarité du mycélium est très faible : il peut changer de mode de sporulation sous l'influence d'un seul apport massif d'eau, alors même que les phialides existent et sont fonctionnelles. Et c'est le cytoplasme de la phialide lui-même qui modifie ses fonctions pour devenir générateur de macrospores.

Germination des spores.

Placées dans l'eau ou dans une solution nutritive, les phialospores gonflent, deviennent globuleuses et émettent un ou deux bourgeons. Lorsqu'il y en a deux, ils sont généralement opposés. Dans des microgouttes contenant très peu de liquide, le bourgeon émis peut fonctionner directement en conidiophore et produire une chaîne de quelques macrospores. Dans le cas général, chaque bourgeon se développe en un filament mycélien. Perdant rapidement leur pouvoir germinatif (1 mois pour des spores produites sur hampe et conservées à l'air libre), les phialospores interviennent surtout dans la dissémination instantanée du parasite.

Du fait de cette vitalité éphémère des phialospores, les macroconidies ont un rôle très important dans la conservation du Champignon et dans sa propagation à longue échéance. Organes durables, elles germent très mal dans l'eau pure et la solution de Czapeck (elles germent mieux dans le jus d'Orange, et

à peu près correctement dans la solution à 2 % de maltea). Par contre, si on les prélève sur des coupes de hampe que l'on a laissées pourrir pendant 8 jours en chambre humide, elles germent remarquablement bien. Nous avons isolé les divers éléments de la flore développée sur ces coupes pourries, et nous avons testé leur action sur la germination des macrospores de *Thielaviopsis*. C'est une Bactérie de la flore saprophytique banale des pourritures de hampe et de fruits qui facilite la germination des macrospores : une Achromobactériacée, actuellement en cours d'étude (1), formant sur milieux gélosés des colonies blanches :

TABLEAU I.

Germination des macrospores de Thielaviopsis.
(Semis monospores en microgouttes d'eau pure).

	Phialospores	Macrospores	Macrospores + bactérie
Souche 348 (1).....	80 %	0 %	100 %
Souche 348 (2).....	100 %	11 %	100 %
Souche 256.....	100 %	20 %	100 %

Souche 348 : isolée à partir de hampe de Bananier
(1) : spores prélevées sur coupe dans les cellules du parenchyme (matériel original) ;
(2) spores obtenues en culture pure sur milieu gélosé à 2 % de maltea ;
Souche 256 : isolée à partir d'Ananas, spores prélevées sur culture gélosée à 2 % de maltea.

Les autres espèces de la flore saprophytique se sont révélées être sans action : en semis mixte avec *Fusarium semi-tectum* Berk. et Rav., les macrospores de la souche 256 n'ont fourni que 15 % de germinations ; avec *Stachylidium theobromae* Turc., 18 % et avec une autre Bactérie, *Aerobacter* sp., formant des colonies jaunes, 16 %.

En outre, cette Achromobactériacée intervient au premier stade de la croissance du *T. paradoxa-musarum :*

(1) L'étude et la détermination des Bactéries sont dues à M. Ridé, Station Centrale de Pathologie Végétale, I.N.R.A., que nous remercions ici pour l'aide qu'il a bien voulu nous apporter dans ce domaine.

TABLEAU II.

Croissance de T. paradoxa *pendant les 16 premières heures.*
(Cultures monospores sur maltea 2 % en chambre à huile).

Souche 350	Maltea 2 % pure	Maltea 2 % + bactérie	Filtrat de culture bactérienne sur maltea 2 % + 1 % de fructose	
			Auctoclavé	Non autoclavé
Longueur des hyphes..	272 µ	304 µ	453 µ	418 µ
Nombre d'hyphes ramifiés.....	40 %	39 %	47 %	42 %
Nombre d'hyphes issus de la cellule initiale bourgeonnée par la spore :				
— 1 hyphe.....	94 %	78 %	74 %	79 %
— 2 hyphes.....	6 %	22 %	26 %	21 %

Le développement de la Bactérie, qu'il soit contemporain (ensemencement mixte sur maltea 2 %) ou antérieur à celui du Champignon (ensemencement sur culture bactérienne filtrée et fructosée) accélère la germination et accroît le nombre d'hyphes produits par la spore. Mais la Bactérie n'intervient plus par la suite : l'intensité de ramification des hyphes en microcultures, de même que la vitesse normale de croissance linéaire (dont l'évaluation ne fait pas intervenir les 48 premières heures de croissance) sont insensibles à cette présence :

TABLEAU III.

Vitesse normale de croissance sur maltea 2 % (souche 350).

Thielaviopsis paradoxa-musarum + bactérie.....	921,9 µ/h
Thielaviopsis paradoxa-musarum seul	916,1 µ/h

La Bactérie, dont la présence est éminemment favorable à l'installation du *Thielaviopsis*, est pratiquement toujours présente sur les hampes, même saines.

Conclusions.

Les symptômes très caractéristiques de la Pourriture de la hampe proviennent de la désorganisation profonde des tissus parenchymateux. Cette dislocation est l'œuvre du *Thielaviop-*

sis : c'est pourquoi on le trouve toujours associé à ce type de dégradation. Mais il n'intervient pas seul ; comme nous l'avons montré (1961) pour d'autres types de pourritures, cette affection est la résultante de l'action d'un complexe infectieux : l'installation du *Thielaviopsis* est subordonnée, au moins en partie, au développement simultané d'une flore complexe, à tendance saprophytique. L'établissement d'une telle flore suppose naturellement une déficience physiologique originelle du régime, un état de moindre résistance. Plutôt qu'une maladie, au sens strict du terme, la Pourriture de la hampe se situe parmi les processus normaux de dégradation des organes végétaux séparés de la plante-mère.

(*Laboratoire de Cryptogamie,*
Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris).

Bibliographie.

Dade (H. A.). — *Ceratostomella paradoxa*, the perfect stage of *Thielaviopsis paradoxa* (de Seynes) v. Höhnel. (*Trans. Brit. Mycol. Soc.*, t. XIII, p. 184-194, 1928).

de Seynes (J.). — Recherches pour servir à l'Histoire Naturelle des Végétaux Inférieurs. III. (*Paris, Masson*, 85 p., 1886).

Joly (P.). — Les flores de dégradation des bananes. (*Rev. Mycol.*, t. XXVI, fasc. 2, p. 101-117, 1961).

Mason (E. W.). — Annotated account of Fungi received at the Imperial Mycological Institute, List II, fasc. 2. (*Mycol. Papers*, n° 3, 67 pp., 1933).

Mitchell (R. S.). — Stem-end rot of bananas with special reference to the physiological relationship of the *Thielaviopsis paradoxa* (de Seynes) v. Höhnel. (*J. Counc. Sci. Ind. Res., Australia*, 1937).

OBSERVATIONS SUR *CIBORIA STROBILINA* (ALB. ET SCHW. EX FRIES) SACC.,

par Mme Marcelle LE GAL (Paris).

Parmi un envoi de champignons discomycètes que nous avait adressé, aux fins de détermination, un de nos collègues suisses, Monsieur E. Rahm, notre attention s'est trouvée attirée tout spécialement par une récolte sur cône de *Picea excelsa*.

C'est une espèce cupulée, ne dépassant guère 4 mm de diamètre, dont la couleur, sur exsiccata, varie du gris-vert au jaune-brun ± foncé et dont le stipe, allongé parfois jusqu'à 8 mm, présente, à la base, un *stroma* (1) brun-noir, lenticulaire, plat et mince, de 3,50 à 4 mm de long sur 3 à 3,50 mm de large et 0,25 à 0,50 mm d'épaisseur, ridé sur les deux faces (fig. 1, A en S).

Les spores sont lisses et non septées, ovoïdes ou en amande ; elles mesurent : 7-10,50 × 3,25-4,50 µ (*id.*, B).

La chair, en coupe radiale, comprend une *zone interne filamenteuse* ± colorée de brunâtre par un pigment formant, par endroits, des dépôts ou des incrustations amorphes le long des hyphes, et une *zone externe pseudoparenchymateuse* (fig. 2).

Les filaments de la zone interne mesurent de 3 à 6 et 8 µ de diamètre, mais certains atteignent jusqu'à 10 et 12 µ ; ils sont septés et ramifiés. Au voisinage du sous-hyménium, ils se montrent de petit calibre, plus ramifiés et plus nettement entrecroisés, mais à mesure qu'on s'en éloigne, ils deviennent presque parallèles et d'un calibre plus fort, puis donnent naissance aux éléments de la zone externe. Ceux-ci, renflés-piriformes (jusqu'à 16 et 28 µ de diamètre), mêlés de sections cylindracées, sont disposés en files qui s'entrecroisent ; leur contour se montre ± anguleux, leur paroi, épaisse et réfringente ; ils forment, dans l'ensemble, un tissu plutôt compact.

(1) Le mot *stroma* est employé ici dans son sens général d'organe de réserves alimentaires (v. Whetzel, *op. cit.*, p. 653, 1945).

Chez les dernières assises de ce tissu, les éléments deviennent de plus petite taille et leurs terminaisons renflées ou allongées donnent à la face externe des réceptacles son aspect velouté-granuleux.

Nous avons pensé tout de suite que notre discale devait être celui que de vieux auteurs : Albertini et Schweinitz (p. 313, 1805) ont décrit comme forme *strobilina*, venant sur les cônes d'*Abies* du *Peziza tuberosa* Hedw. Ce dernier, très commun au printemps, naît d'un sclérote typique, qui se développe en terre, sur les rhizomes d'*Anemone nemorosa*.

Cette forme *strobilina* fut reprise par Fries (p. 58, 1822) et classée ensuite par Saccardo dans le genre *Ciboria*, comme espèce distincte de *Peziza tuberosa*, sous le nom de *Ciboria strobilina* (A. S.) Sacc. (p. 203, 1889). Mais, chez les auteurs qui en ont parlé, nous n'avons pas vu que la présence d'un *stroma* ait été mentionnée.

Par ailleurs, nous avons constaté que la plus grande confusion régnait sur la position générique qui avait été attribuée à ce champignon.

Par exemple, Rehm en fait un *Ombrophila* (p. 482, 1891) et Quélet un *Phialea* (1878 et 1880) ; Boudier, confirmant la position prise par Saccardo, le classe dans les *Ciboria* (1907), tandis que, pour Seaver, c'est un *Chlorociboria* (1936).

En outre, il est distribué, dans la collection des *Fungi eur.*, sous le nom de *Peziza bulgarioides* Rabh. [N° 1008, 1866 (v. *Hedwigia* III, p. 45, 1867) et N° 1311 (v. *Hedwigia* IX, p. 136, 1870)].

Ce *Peziza bulgarioides*, simplement synonyme récent de notre espèce, comme Rehm l'indique (p. 482, 1891), avait été classé par Karsten (p. 105, 1871) dans le genre *Rutstroemia*, dont, ultérieurement, White l'exclut (p. 235, 1941). Enfin, trois

---

Légende de la fig. 1.

Fig. 1. — *Ciboria strobilina*. A, trois réceptacles (× 6) de la récolte suisse avec, en S, deux stromas vus de face ; *a*, réceptacle de la même récolte, représenté grandeur naturelle, avec son stroma vu de profil.

B, spores (× 3000) de la récolte suisse à stroma.

C, trois réceptacles de la récolte du Jura français, vus en perspective et D, réceptacle de la même récolte, vu en coupe avec la zone interne colorée de brun foncé (× 6).

E, jeune réceptacle sur une extrémité d'écaille de cône d'épicéa (également × 6).

F, spores (× 3000) de la récolte du Jura français.

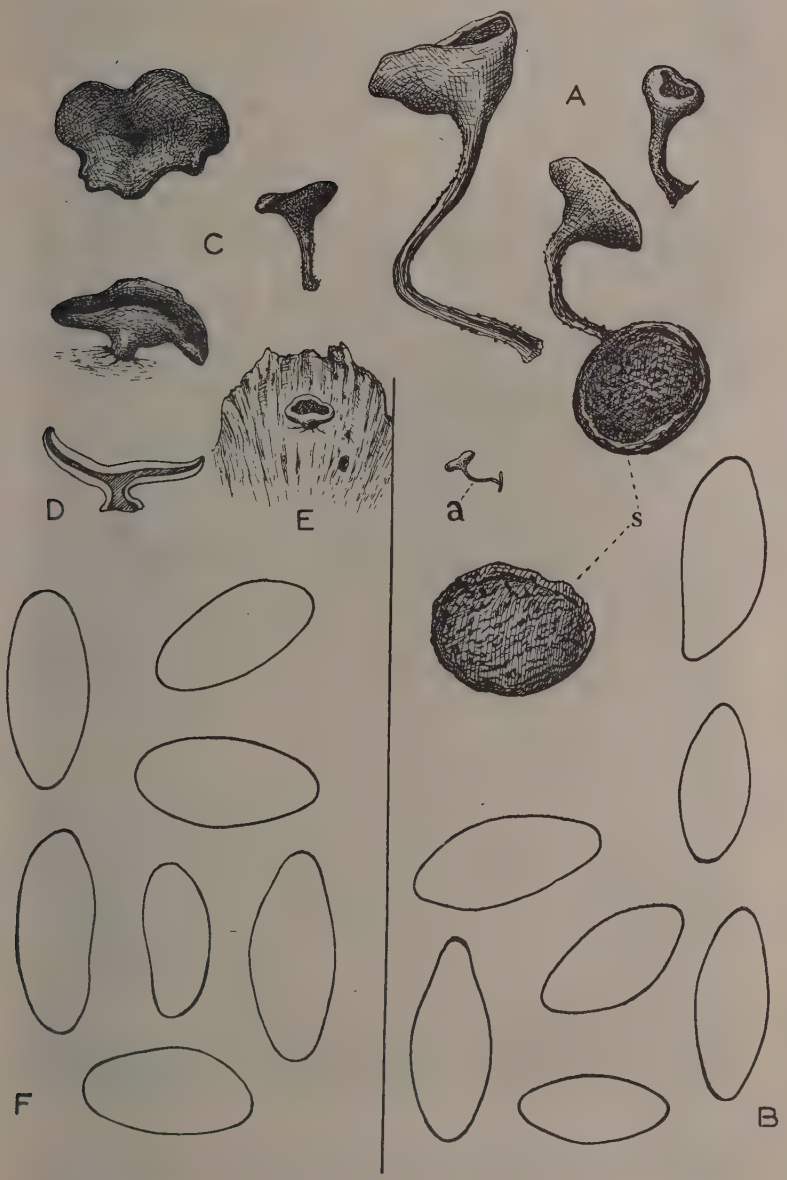


FIG. 1.

auteurs : RAMAMURTHI, KORF et BATRA se mettent d'accord pour en faire un *Chlorociboria* (p. 860, 1957), rejoignant ainsi l'opinion exprimée par SEAVER en 1936.

La question se complique encore du fait qu'il existe une autre espèce olivâtre croissant également sur les cônes d'épicéa et qui, bien que nettement différente de celle que nous traitons ici, a été confondue avec elle, d'autant qu'elle porte une épithète spécifique homonyme ; c'est le *Peziza strobilina* Fries (p. 125, 1822)), classé plus tard par SACCARDO dans le genre *Phialea*, sous le nom de *Phialea strobilina* (Fr.) Sacc. (p. 256, 1889).

Il s'agit ici du genre *Phialea* (Fr.) Gillet (p. 93, 1879), qui a pour type *Peziza cyathoidea* Bull. ex Fr., et non du genre *Phialea* sensu Boudier (p. 109, 1907) lequel comprend surtout des espèces se rapportant au genre *Rutstroemia* Karst.

Or, ce genre *Phialea* (Fr.) Gillet est caractérisé surtout par sa structure. Celle-ci comprend une zone interne d'hyphes grêles, à parois minces et colorables au bleu lactique, qui contraste avec la zone externe, non colorable, d'hyphes à parois épaisses et réfringentes, parallèles entre elles et presque parallèles à la surface de la face externe des réceptacles (v. DENNIS, p. 20, 1956).

Le *Phialea strobilina* (Fr.) Sacc. se distingue à coup sûr de notre *Ciboria strobilina* (Alb. et Schw. ex Fries) Sacc. non seulement par sa structure de *Phialea* conforme à celle que nous venons de décrire, mais encore par ses spores. Celles-çi sont non point largement, mais, au contraire, étroitement elliptiques, et mesurent : 8-10 × 1,50-2 µ.

L'espèce a été exactement décrite par DENNIS (p. 29, 1956), mais la synonymie que donne cet auteur indique qu'il aurait confondu les deux espèces.

Il ne nous paraît pas nécessaire de changer le nom spécifique du *Phialea*, chacune des deux espèces appartenant, sans doute possible, à un genre différent, maintenant nettement défini.

Quant à notre discale à *stroma*, nous hésitions à l'identifier avec le *Ciboria strobilina* décrit par les auteurs. C'est alors qu'en mai dernier nous avons eu la chance de recevoir de M. Victor PIANE, un certain nombre d'exemplaires, en provenance du Jura français, d'une espèce sur cône d'épicéa, correspondant au *Ciboria strobilina*, et chez lequel nous n'avons pas retrouvé ce *stroma* bien délimité que possédait la récolte suisse.

Il nous a été possible alors de faire d'utiles comparaisons. Les échantillons du Jura étaient plus nettement verts que les

échantillons suisses, d'un vert olive ± foncé allant jusqu'au noirâtre ; ils se rapportent vraisemblablement à la var. *Bresadolae* de Boudier (p. 106, 1907 et Pl. 480 bis, T. III des *Icones Myc.*) que, d'après cet auteur, sa coloration seule distingue du *type*. A vrai dire, c'est plutôt une simple *forme* qu'une *variété*.

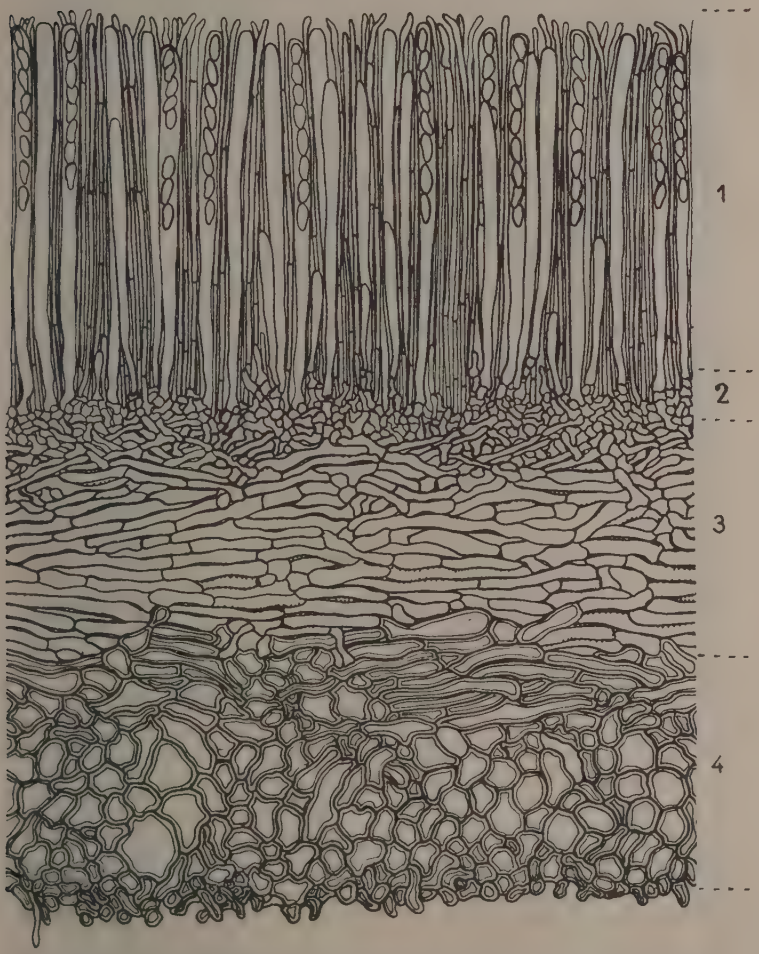


Fig. 2. — *Ciboria strobilina*. Coupe radiale dans la région moyenne d'un réceptacle de la récolte suisse (× 400) montrant : en 1, l'hyménium avec thèques et paraphyses ; en 2, le sous-hyménium ; en 3, la zone interne filamenteuse, et en 4, la zone externe pseudoparenchymateuse.

Macroscopiquement ils avaient la même taille et le même aspect que nos échantillons suisses (fig. 1, C et E) ; ils étaient seulement plus courtement stipités, comme cela arrive fréquemment chez les différents individus d'une même espèce.

Microscopiquement ils présentaient des tissus semblables, la *zone interne* étant seulement plus intensément colorée (*id.*. D) ; leurs spores avaient mêmes dimensions et même forme (F)).

En bref, nous étions en présence d'une seule et même espèce, pouvant avoir un *stroma* ou en être apparemment dépourvue.

Quelles conclusions plus générales pouvons-nous tirer de ces observations ?

Tout d'abord, il semble qu'on trouve rarement, dans la nature, le *Ciboria strobilina* avec son stroma. On peut se demander alors dans quelles conditions se forme cet organe de réserves alimentaires ?

De toutes façons, il serait intéressant de reconsidérer la question et de mettre l'espèce en culture, au laboratoire, pour observer son comportement du point de vue biologique.

En second lieu, la découverte, chez ce discale, de sujets à *stroma* permet de préciser la position systématique de l'espèce. Celle-ci appartient à la famille des Sclerotiniaceae de Whetzel (1945). En effet, d'après cet auteur, le développement d'un *stroma* est le principal caractère commun à tous les membres de la famille des Sclerotiniaceae et le signe de l'affinité naturelle qui les unit.

Par ailleurs, les spores de notre espèce sont des spores typiques de Sclerotiniaceae.

Enfin, notre champignon est bien un *Ciboria* ; il doit être maintenu dans cette coupure générique, mais telle qu'elle a été reprise et définie par Whetzel (p. 674-676, 1945), avec, pour *type*, *Peziza caucus* Rabent. ex Fries (p. 126, 1922).

Le caractère distinctif des *Ciboria*, c'est qu'ils se développent sur les organes mâles ou femelles (chatons et semences) d'un certain nombre d'arbres comme : l'aulne, le saule, le peuplier, le bouleau, l'érable, le charme, le noisetier, etc., et qu'ils *momifient* ces organes.

Notre espèce se rencontre sur les écailles des cônes d'épicéas ; or, chacune des écailles ligneuses de ces cônes doit normalement présenter à l'aisselle une ou plusieurs graines, le plus souvent libres, parfois étroitement soudées à l'écaille.

Le *stroma* des *Ciboria* appartient au type que Whetzel appelle « mummioid sclerotia » (p. 655 et p. 663, 1945). Il imite

la forme de l'organe (mâle ou femelle) stromatisé, et d'ordinaire, présente extérieurement un peu l'aspect de ce qu'on appelle communément un *sclérote*.

Le *stroma* que nous avons pu observer chez notre espèce pourrait, en effet, être pris au premier abord pour un *sclérote*, et il semble s'être formé sur la graine (1) de l'épicéa, car il a bien les dimensions de cette dernière ; toutefois, sa forme est nettement moins allongée, la graine de l'épicéa ressemblant à un pépin dissymétrique ou à une larme, terminés à la base par un pretit crochet. Mais il est permis de penser que l'organe *momifié*, ayant subi une importante transformation, diffère quelque peu de l'organe sain.

D'un autre point de vue, les réceptacles de notre discale ont bien une structure de *Ciboria*.

Par ailleurs, nous ne croyons pas qu'il existe des affinités vraies entre notre *Ciboria strobilina* et les espèces du genre *Chlorociboria* Seaver (p. 390-391, 1936), dont le *type* est *Helvella aeruginosa* Oed.

Les *Chlorociboria* sont des espèces lignicoles, sauf l'une d'elles qui est caulicole ; elles sont toujours dépourvues de ce *stroma* qui est, comme nous l'avons vu plus haut, le caractère distinctif de la famille des Sclerotiniaceae.

C'est donc en connaissance de cause que Whetzel, en proposant cette famille nouvelle, n'y a pas fait entrer le genre *Chlorociboria*.

En l'absence de caractères valables, qui nous feraient reviser cette position, nous maintiendrons le genre *Chlorociboria* dans la grande famille — encore hétérogène sans doute —, des *Helotiaceae*, place à laquelle nous l'avions laissé (1953).

(*Travail du Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle*).

BIBLIOGRAPHIE.

Albertini (B. von) et Schweinitz (L. D. von). — Conspectus Fungorum in Lusatiae Superioris, 1805.
Boudier (E.). — *Icones Mycologicae*, 1905-1910.
Histoire et Classification des Disc. d'Europe, 1907.

(1) Chez les cônes d'épicéa qui nous ont été adressés du Jura et où nous n'avons pas trouvé de *stroma*, nous n'avons pas vu non plus de graines à l'aisselle des écailles.

DENNIS (R. W. G.). — A Revision of the British Helotiaceae in the Herbarium of the Royal Botanic Gardens, Kew, with Notes on related european Species, *Mycological Papers* n° 62, april 1956.

FRIES (E.). — *Systema Mycologicum* II, 1822.

GILLET (C. C.). — Les Champignons de France, Discomycètes, 1879.

KARSTEN (P. A.). — Mycologia Fennica, 1871.

LE GAL (M.). — Les Discomycètes de Madagascar, 1953.

QUÉLET (L.). — Quelques espèces nouvelles de Champignons, *Bull. Soc. Bot. Fr.*, t. XXV, p. 291, 1878.

— Les Champignons du Jura et des Vosges, 10e Suppl., *Ass. Fr. Av. Sc.*, T. IX, Pl. 9, fig. 8, 1880.

RAMAMURTHI (C. S.), KORF (R. P.) and BATRA (Lekh. R.). — A Revision of the North American species of Chlorociboria (Sclerotiniaceae), *Mycol.*, vol. 49, p. 854-863, 1957.

REHM (H.). — *Rabenh. Kryp. Fl.*, Lief 35, 1891.

SACCARDO (P. A.). — Sylloge Fungorum, vol. VIII, 1889.

SEAVER (F. J.). — Photographs and descriptions of Cup-Fungi, XXIV. *Chlorociboria, Mycol.*, vol. XXVIII, p. 393-394, 1936.

WHETZEL (H. H.). — A Synopsis of the Genera and Species of the Sclerotiniaceae, a family of stromatic inoperculate Discomycetes, *Mycol.*, vol. XXXVII, p. 648-714, 1945.

WHITE (W. L.). — A Monograph of the Genus Rutstroemia, *Lloydia*, vol. IV, p. 153-240. 1941.

HÉTÉROBASIDIOMYCÈTES SAPROPHYTES ET HOMOBASIDIOMYCÈTES RÉSUPINÉS.

IX. — De l'utilisation des critères d'interfertilité et de polarité pour la reconnaissance objective des limites spécifiques et des affinités.

par Jacques BOIDIN et Marie des POMEYS (1).

Résumé.

L'étude de 16 espèces révèle des cas d'homothallie (3), d'hétérothallie bipolaire (1) et tétrapolaire (12) qui confirment l'intérêt systématique de ces critères. D'autre part, des essais d'interfertilité en diploïdisation simple ou en phénomène de Buller prouvent l'identité de récoltes canadiennes, marocaines, et de récoltes françaises quelquefois dénommées différemment (*Phlebia merismoides* et *radiata*, *Peniophora separans* et *piceae*) ; des interstérilités s'expliquent soit par une appartenance à des espèces voisines mais différentes, soit par le vieillissement des cultures.

*
**

I. — Polarité dite « sexuelle ».

Depuis la mise au point de l'un d'entre nous (1956) sur la polarité des Théléphoracées et la valeur systématique de ce caractère, quelques données nouvelles ont été publiées qu'il convient tout d'abord de rappeler brièvement. Nous n'emploierons pas pour une si brève période l'ordre chronologique, mais nous chercherons à voir s'il se confirme que les caractères de polarité dépendent de la position systématique.

(1) Avec la collaboration de P. Lanquetin, biologiste adjointe du Centre National de la Recherche Scientifique.

Rappelons quelques règles établies précédemment comme la tétrapolarité des *Peniophora* ss. stricto (*P.* sect. *Coloratae*), la bipolarité des *Corticium* sect. *Ceracea* Bourd. et Galz. microsporés, ou *Microceracea* Boid. (= genre *Phlebia* ss. Donk). Nous constatons de fait que Nobles (1956) signale la tétrapolarité de *Peniophora septentrionalis* Laurila, de *P. separans* Burt (2) et de *St. pini* (en fait *P. pseudo-pini* Weres. et Gibs) tandis que 4 espèces appartenant aux *Microceracea* se sont bien révélées bipolaires :

— « *Peniophora* » *phlebioides* Jacks., à Nobles, Macrae et Tomlin (1957).

— *Phlebia merismoides* Fr. (3), à Nobles, Macrae et Tomlin (1957).

— « *Radulum* » *casearium* (Morgan), Nobles, Macrae et Tomlin (1957).)

— *Corticium pallido-livens* Bourd. et Galz., à Novel (1958).

Les autres résultats se rapportent à des espèces trop dispersées dans la classification pour que des rapprochements puissent être esquissés actuellement, citons :

Vuilleminia megalospora Bres., bipolaire selon Alamandy (1958) sur 32 haplontes.

« *Stereum* » *sulcatum* Burt, bipolaire selon Maxwell (1954) sur 8 haplontes seulement.

Vararia granulosa (Fr.) Laurila, bipolaire selon ce même auteur sur 11 haplontes.

Merulius americanus Burt, tétrapolaire selon Hwang (1954) (4) ainsi que *Merulius lacrymans* (Wulf.) Fr. et *M. himantioides* Fr., selon Harmsen, Bakshi et Choudhury (1958). Notons au passage la concordance des résultats portant sur les *Merulius* à spores colorées (genre *Serpula*) alors que les *Merulius* ceracés affines au genre *Phlebia* ont été antérieurement signalés comme bipolaires.

Les connaissances sur les Hétérobasidiés saprophytes ont fort peu progressées depuis l'important travail de Barnett (1937) sur les *Exidia* bipolaires, et celui de Yen (1947 et 1950)

(2) Nous verrons plus loin qu'il convient sans doute de considérer cette dernière espèce comme synonyme de *P. piceae*.

(3) Comme nous le verrons plus loin, *Phlebia merismoides* est interfertile à *Phl. aurantiaca* et la bipolarité notée par Nobles et coll. confirme celle établie par Terra (1953) et Tassinari (1956). De même Nobles et coll. ont confirmé les résultats obtenus par M. Tassinari sur *Mycoacia* (*Odontia*) *uda* (Fr.).

sur les Calocérales à tendance tétrapolaire. Citons la bipolarité d'*Aporpium caryae* (Sehw.) Teix. et Rogers démontrée par Macrae (1955). En 1956 Banerjee étudie *Auricularia Auricula-Judae* et le trouve tétrapolaire contrairement à Barnett.

Résultats originaux.

Ces résultats, sauf difficultés particulières, ne seront pas exposés en tableaux mais, comme le firent Yen, puis Nobles, Macrae et Tomlin, et surtout Alamandy et Novel, de manière beaucoup plus concise bien qu'aussi précise.

Comme ces derniers l'ont expliqué, les essais sont d'abord effectués avec 10 cultures monospermes choisies au hasard et numérotées arbitrairement de 1 à 10. L'apparition des boucles est considérée comme une preuve de diploïdisation ; si cette première série de tests ne révèle que 2 ou 3 sexes, une deuxième série de tests est alors mise en route entre représentants (5) des pôles établis et d'autres haplontes de pôle inconnu portant les numéros 11, 12, etc... Les formules A_1B_1 — A_2B_2 — A_1B_2 et A_2B_1 ou A_1 et A_2 seront attribuées arbitrairement.

A) *Peniophora* Cooke sensu stricto :

Peniophora versicolor Bres.

Spécimen : LY 3675, sur *Argania spinosa*, récolté le 20-1-1960 près de Mogador (Maroc) par G. Malençon (N° 3571) ; dét. J. Boidin.

A_1B_1	1*-2-5-6-8-9-10-11
A_2B_2	3*
A_1B_2	4*-7-12-14-15-17-18
A_2B_1	13-16-19.

Peniophora decorticans Burt.

Spécimen : LY 3497, sur *Acer macrophyllum* ; récolté le 10-9-1959 à Victoria, British Columbia (Canada) par W. G. Ziller (DAOM 53.403), reçu au laboratoire le 28-9-1959 de Mademoiselle L. K. Weresub.

A_1B_1	1-3-4-6-9
A_2B_2	5
A_1B_2	7
A_2B_1	2-8-10

(4) Résultats que nous ne connaissions pas en 1956 et que nous rapportons pour cela aujourd'hui. Il semblerait que ce *Merulius* soit synonyme de *M. himantioides*.

(5) Ces représentants sont signalés par un astérisque.

Signalons en outre des fausses boucles (crochets) dans les confrontations suivantes : 1 × 2 ; 5 × 2 ; 5 × 8 ; 5 × 10 ; c'est-à-dire $A_1B_1 \times A_2B_1$ et $A_2B_2 \times A_2B_1$.

Peniophora tamaricicola Boidin et Malençon (6).

Spécimen LY 3687 bis, sur *Acacia cyanophylla* (?), bords de l'Oued Ksob dans le maquis de Mogador, leg. G. Malençon (n° 3498) récolté le 22-12-1959. Reçu vivant à Lyon le 11-3-60.

A_1B_1	1-2
A_2B_2	4-6
A_1B_2	3-5-8-7-10
A_2B_1	9.

Signalons la présence de fausses boucles (crochets) dans la seule confrontation 2 × 9.

Peniophora albo-badia (Schw. ex. Fr.) Boid. (6).

Spécimen : LY 3853, sur feuillu, récolté le 27-9-1960, Baton Rouge, Louisiane (U.S.A.), leg. B. Lowy, ut *Stereum albo-badium*.

A_1B_1	1-2-5-7
A_2B_2	3-9-10
A_1B_2	4-8
A_2B_1	6

On peut donc affirmer maintenant que 28 *Peniophora* sur 28 sont tétrapolaires. Seule parmi les espèces européennes pourvues de boucles *Peniophora suecica* n'a pas été l'objet d'investigations en ce sens. Il n'est pas possible d'étudier le comportement de *Peniophora* sans boucles tel *P. erikssoni*, dont les cultures mono- comme polyspermes sont constituées d'articles à 1-2-3-(5) et même 7 ou 8 noyaux, et que l'on serait tenté de considérer comme haploparthénogénétique s'il n'y avait pas dans la baside et les spores avant projection, 3 séries de divisions.

B) Le Genre *Hyphodontia* Eriksson.

Jusqu'à ce jour n'était connue que la tétrapolarité de *Corticium serum* Pers. = *Hyphodontia sambuci* (Pers. ex. Pers.) J. Eriks. Nous avons reconnu cette même tétrapolarité chez 3 autres *Hyphodontia*.

(6) Voir Boidin VIII — *Peniophora* à dendrophyses (2e contribution) Revue de Mycologie, Paris (sous presse).

Hyphodontia quercina (Pers.) P. Erikss. (= *Radulum quercinum* Fr.).

Spécimen : LY 3827, sur *Abies pectinata*, récolté le 22-9-1960 au Col de la République (Loire).

A_1B_1	2
A_2B_2	4-5-7-8-9
A_1B_2	10
A_2B_1	1-3-6

Hyphodontia papillosa (Fr.) J. Erikss.

Spécimen : LY 3801, sur *Corylus avellana*, récolté le 8-9-1960 au nord de Marlieux (Ain).

A_1B_1	1-3-4-5-7
A_2B_2	2-10
A_1B_2	8
A_2B_1	6-9

Hyphodontia crustosa (Pers. ex. Fr.) J. Erikss.

Spécimen : LY 3812, sur *Pseudotsuga douglasii*, récolté le 12-9-1960, à St Nizier d'Azergues (Rhône).

A_1B_1	1*-2-3-4-5-6-7-9-12-16-18-20-21-23
A_2B_2	15*
A_1B_2	8*-11-13-22
A_2B_1	10*17-19.

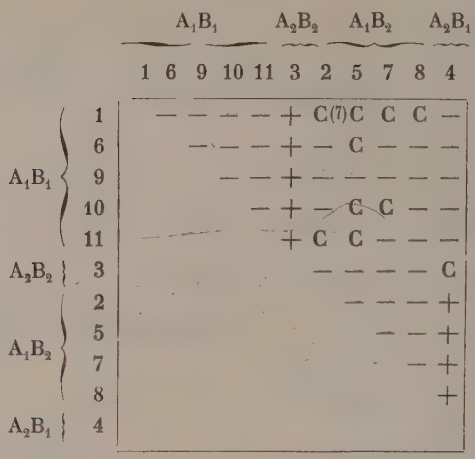
C) Le genre *Radulomyces* Christiansen (1960).

Après Bourdot et Galzin qui avaient séparé selon la taille des spores, deux groupes dans leur section *Ceracea* du genre *Corticium*, nous avions souligné (1958 a, p. 330 et 339) les importantes particularités mycéliennes des *Microceracea* tous bipolaires, particularités qui ne se retrouvaient pas chez *C. confluens* de la sous-section à grandes spores.

Nous sommes actuellement en mesure d'apporter des précisions sur la polarité de *C. confluens* et d'une espèce affine dénommée jusqu'ici « *Stereum* » *repandum* (cf. Boidin 1959, p. 219-220).

Corticium confluens Fr.

Spécimen : LY 3597, sur *Acer campestre*, récolté le 30-11-1959, à Limonest (Rhône).



Stereum repandum (Fr.) Fr. var. *lusitanica* Torr.

Spécimen : LY 3748, sur *Olea europaea*, récolté le 22-4-1960 vers Talambot (Maroc) leg. et det. G. Malençon.

A_1B_1 (8)	1-10
A_2B_2	6-7
A_1B_2	2-3-4-8
A_2B_1	5-9

Les études des mycéliums, que nous ne décrirons pas aujourd'hui, et de la polarité confirment le rapprochement suggéré après étude des carpophores. M. P. Christiansen a tout récemment (1960 p. 230) proposé le genre *Radulomyces* pour *Corticium confluens, rickii, Radulum molare* (= *rude*), *pachyodon,* auprès desquels doit venir se placer *St. repandum* qui a les mêmes hyphes bouclées (système monomitique), les mêmes basides claviformes et des spores larges, riches en lipoïdes (9).

D) *Quelques autres espèces.*

Quelques autres espèces isolées dans la classification ont été étudiées.

(7) C signifie crochets, c'est-à-dire fausses boucles.

(8) Cette polarité a été démontrée récemment par A. Bénichou (inédit).

(9) *Radulomyces repandus* (Fr. Elench. Fung., 1, 190, 1828, comme *Thelephora*) *nov. comb.*

Laxitextum bicolor (Pers. ex. Fr.) Lentz.

Spécimen : LY 3875, sur *Quercus sp.*, récolté le 7-10-1960, Essen Laue Farm, L.S.U., Baton Rouge, Louisiane (U.S.A.), leg. et det. B. Lowy.

A_1B_1	1-6
A_2B_2	2-7-10
A_1B_2	4-8
A_2B_1	5-9

Xylobolus sp.

Spécimen : LY 3306, sur bois mort de conifère, récolté le 5-9-1959, à Samoëns (Haute-Savoie).

Il s'agit d'une très curieuse espèce qu'il conviendra sans doute de dénommer. Imbue, elle apparaît noir bleuté, avec marge adhérente. Spores amyloïdes lisses, oblongues, subcylindriques, peu ou pas déprimées, 5,5-7 × 3-3,6 µ ; acanthophyses innombrables ; gloeocystides sulfo-anisique violentes ; hyphes bouclées... caractères microscopiques qui la rapprochent de *Xylobolus ahmadi*.

A_1	1*-5-6-7-8-11-13-14-18-20-22-23-25
A_2	2-3*-4-9-10-12-15-16-17-19-21-24.

En outre 25 autres haplontes ont été confrontés par des élèves du certificat de Botanique et Physiologie végétale approfondies au cours des séances de Travaux pratiques ; leurs résultats ont pleinement confirmé la bipolarité déjà établie (8).

« *Stereum* » *Murraii* (Berk. et Curt.) Burt.

Spécimen : LY 3899, Syracuse (New York) U.S.A. leg. et det. J. L. Lowe, le 8-10-1960, n° L. II. 759, reçu vivant le 3-12-1960.

A_1B_1	3*13
A_2B_2	1*-4*-5-6-10-11-14.
A_1B_2	7*-12-15-16
A_2B_1	8*-9.

Si Biggs le signalait dès 1938 comme hétérothalle, nous n'avons pas trouvé trace depuis lors d'une étude plus précise. La tétrapolarité de l'espèce est maintenant prouvée.

Lopharia cinerascens (Schw.) Cunningh.

Spécimen : LY 3897, Syracuse, (New-York) U.S.A., leg., R. L. Gilbertson le 22-10-1960, det., J. L. Lowe, n° 2723, reçu vivant le 3-12-1960.

A_1B_1	1-5-9-10
A_2B_2	3
A_1B_2	2-8
A_2B_1	4-6-7

Quelques cas d'homothallie.

Helicogloea farinacea (Höhn.) Rogers.

Spécimens :

LY 1205, sur *Alnus viridis*, près des Saix, Samoëns (Hte-Savoie), 3-9-1953.

LY 1520, sur *Abies pectinata*, récolté le 13-5-1954, Pramenoux (Rhône).

LY 3785, sur *Alnus viridis*, récolté le 3-9-1960, Les Saix, Samoëns (Hte-Savoie).

Bien que les spores uninucléées germent en donnant des filaments uninucléés, après 2 à 4 semaines de culture les 9 isolements monospermes issus de la sporée 1205, puis l'année suivante 5 isolements faits à partir de la récolte 1520 se sont révélés bouclés et binucléés. Pour confirmer ces résultats en octobre 1960, 35 jeunes germinations monospermes ont été isolées qui toutes ont donné après trois semaines à 25°C, un mycélium bouclé.

Stereum complicatum (Fr.) Fr.

Tous les *Stereum s. str.* étudiés en cultures monospermes se sont jusqu'ici montrés homothalles. Ayant entre les mains un carpophore américain vivant de *St. complicatum* (Fr.) Fr. (sur *Quercus nigra*, 29-9-1960, Baton Rouge, Louisiane), nous avons chargé un de nos élèves, J. Berthier, d'isoler des cultures monospermes ; les 23 cultures portent des boucles opposées ou verticillées sur leurs hyphes larges.

Stereum ostrea (Blum. et Nees. ex Fr.) Fr.

Un autre *Stereum* américain, *St. ostrea*, dû comme le précédent à l'obligeance de B. Lowy, (sur *Quercus* sp., 27-9-1960, Baton Rouge, Louisiane), a bien voulu sporuler à son arrivée à Lyon. 16 isolements monospermes, observés à plusieurs reprises durant deux mois, se sont finalement tous montrés porteurs de boucles parfois opposées ou verticillées sur leurs hyphes les plus larges.

II. — Essais d'interfertilité entre cultures d'origines géographiques éloignées.

Il est inutile de souligner l'intérêt croissant reconnu aux critères d'interfertilité pour les délimitations spécifiques chez les Basidiomycètes saprophytes. On peut citer aujourd'hui de remarquables mises au point systématiques pour lesquelles ont été largement utilisés ces critères.

Quelques sondages récents ayant montré que des espèces différentes sont parfois appelées du même nom spécifique dans des régions éloignées ou inversement que des noms différents sont utilisés pour la même espèce ; il nous a semblé intéressant de confirmer, par un test objectif, les déterminations de chercheurs éloignés, et par la même de fixer avec certitude synonymes, répartition géographique...

Lorsque l'on dispose de cultures haploïdes d'origines géographiques distantes, les tests sont facilités par le fait que les pôles n'interviennent pas, et il n'est pas nécessaire d'établir au préalable un tableau de polarité pour chaque carpophore utilisé. Ce qui limite cependant jusqu'ici de telles études, c'est la difficulté d'obtenir des cultures haploïdes étrangères, peu de Mycologues s'étant jusqu'ici astreints à des isolements monospermes. Certes on peut dans certains cas tourner cette difficulté, lorsque l'on dispose soi-même d'haplontes, en demandant l'envoi d'un diplonte que l'on pourra tester par le biais du phénomène de Buller, mais il est souvent beaucoup plus simple de tirer partie de la résistance prolongée de beaucoup de Corticiés lignicoles à la dessiccation. Nous avons à plusieurs reprises indiqué des cas de survie à l'état d'exsiccatum (1958 b p. 437 par ex.), et pouvons ici rapporter le cas d'un *Vuilleminia megalospora* récolté le 27-7-55, séché à l'air puis mis en herbier et qui a sporulé abondamment le 6-11-56, permettant d'obtenir des cultures haploïdes.

L'envoi de spécimens secs doit permettre d'obtenir, même à de très grandes distances du lieu de récolte, des carpophores vivants pour études cytologiques, et obtention de sporées, cultures ....

Matériel et méthodes.

Les cultures et carpophores vivants utilisés seront signalés avec le maximum de renseignements dont nous disposions : numéro, support, date et lieu de récolte, sans omettre les noms

des collecteurs et déterminateurs s'il ne s'agit pas des auteurs de cet article. Le pays d'origine ne sera indiqué que si le spécimen est étranger.

Dans le cas le plus simple, des cultures monospermes sont appariées 2 à 2 en tubes ou en boîtes de Pétri, et l'apparition de boucles après quelques semaines permet de reconnaître les confrontations réussies (notées +). Dans d'autres cas, haplonte et diplonte sont appariés en boîte de Pétri (phénomène de Buller) ; si des boucles apparaissent sur l'haplonte loin de la ligne de contact, la confrontation est dite positive. Ceci nécessite que les haplontes utilisés soient récepteurs. Des précautions beaucoup plus grandes doivent être prises ; nous donnerons ci-dessous des détails précis pour un exemple au moins (voir *Peniophora separans*).

Dans l'état actuel, on ne tiendra compte que des résultats positifs ; en effet des résultats négatifs devraient être confirmés de nombreuses fois après appariements de récoltes diverses pour que des déductions valables puissent en être tirées, soit que l'on opère en diploïdisation simple, soit à plus forte raison que l'on opère en phénomène de Buller.

A — *Peniophora polygonia* (Pers. ex. Fr.) Bourd. et Galz.

Souches utilisées :

DAOM 22.947 « *Corticium polygonium* Pers. » sur *Populus tremuloides*, Lakehead région, Ontario (Canada), leg. R. L. Black, det. R. Macrae. — 2 cultures polyspermes qui seront appelées P_1 et P_2.

LY 3.601 sur *Populus tremula*, 3-1-1960, les Echets (Ain).

Confrontation diplonte × haplonte

DAOM 22.947 — P_1 × 3601/1 —➤ —
DAOM 22.947 — P_1 × 3601/2 —➤ +
DAOM 22.947 — P_2 × 3601/1 —➤ +
DAOM 22.947 — P_2 × 3601/2 —➤ +

Il y a donc identité entre ces deux récoltes européenne et canadienne.

B — *Peniophora lycii* (Pers.) Hoehn. et Litsch.

Souches utilisées :

LY 2009, sur *Robinia pseudo-acacia*, 18-9-1955, Alboussière (Ardèche).

LY 3760, sur *Nerium oleander*, 22-4-1960, Talambot (Maroc), leg. G. Malençon n° 3707.

3760/1 × 2009/1 —➤ +
3760/2 × 2099/1 —➤ +
3760/1 × 2009/2 —➤ +
3760/2 × 2009/2 —➤ +

Il y a identité entre les récoltes africaine et européenne.

C — *Peniophora incarnata* (Pers.) Karst.

Souches utilisées :

Haplontes : LY 2164, sur *Fagus silvatica*, 4-4-1956, Mont Pilat (Loire).
LY 2482, sur *Corylus avellana*, 21-9-1956, Luchon (Haute-Garonne).
LY 3126, sur *Fraxinus excelsior*, 23-11-1958, Kingthorfe Wood, Pickering, Yorksh., leg. W. Bramley (Angleterre).

Diplonte : DAOM 17.722, sur *Rubus odoratus*, 26-10-1946, Aurora, Ontario (Canada) leg. et det. H. S. Jackson.

Les haplontes 2164, 2482 et 3126 sont interfertiles.

Des haplontes de chaque souche, confrontés avec le diplonte DAOM 17.722 ont donné :

DAOM 17.722 × 2164/A —➤ —
» × 2482/1 —➤ —
» × 2482/2 —➤ +
» × 3126/A —➤ —
» × 3126/B —➤ —

La confrontation nettement positive du seul monosperme 2482/2 permet cependant de conclure à l'identité des *P. incarnata* européens et canadien.

D — *Peniophora versicolor* Bres.

Cette espèce est beaucoup plus rare que la précédente et s'en distingue aisément par l'absence de gloeocystides, et les basidiospores uninucléées.

Souches utilisées :

LY 1525, sur *Prunus sp.*, 13-5-1954, Chamelet (Rhône).

LY 3675, sur *Argania spinosa*, 20-1-1960, Mogador (Maroc), leg. G. Malençon n° 3571.

1525/B × 3675/1 —➤ +
1525/B × 3675/2 —➤ +

Ces premiers tests s'étant révélés rapidement concluants, il n'a pas été fait d'autres confrontations.

E — *Peniophora « cinerea* group. ».

A plusieurs reprises, de 1954 à 1959, des *Peniophora* canadiens nous ont été envoyés vivants sous le nom de *P.* « *cinerea* group. ». Il s'agit de *Peniophora* gloeocystidiés intermédiaires entre les *Peniophora nuda* et *violaceo-livida* bien connus en Europe.

Souches utilisées :

P. « *cinerea* group. ».

DAOM 30.578, sur *Quercus*, 24-10-1954, Delhi, Norfolk Co. Ontario (Canada), leg. R. F. Cain. Cultures haploïdes isolées à Lyon en février 1955.

DAOM 30.579, sur *Acer rubrum*, 24-10-1954, N. of Delhi, Norfolk Co., Ontario (Canada). Leg. R. F. Cain. Cultures haploïdes isolées à Lyon en février 1955.

DAOM 30.677, sur *Prunus* sp., 24-10-1954, N. of Delhi, Norfolk Co., Ontario (Canada), leg. R. F. Cain. Cultures haploïdes isolées à Lyon en février 1955.

LY 3204 = DAOM 53.329, sur feuillu, 5-7-1959, Ridge Road. Gatineau Park, P. Québec (Ontario), leg. R. Macrae et L. Weresub ; Cultures haploïdes isolées à Lyon en octobre 1959.

LY 3205 = DAOM 53.324 id.
LY 3206 = DAOM 53.325 id.
LY 3207 = DAOM 53.322 id.

Peniophora violaceo-livida (Somm.) Mass.

LY 742, sur *Populus tremula*, 25-4-1951, Uppsala, Suède, leg. et det. J. Eriksson.
LY 2640, sur *Salix* sp. 30-8-1957, le Môle (Haute-Savoie).
LY 3388, sur *Abies alba*, 8-9-1959, Tanninges (Haute-Savoie).

Peniophora nuda (Fr.) Bres.

LY 744, sur feuillu, Uppsala, Suède, leg. et det. J. Eriksson.
LY 1738, sur *Buxus sempervirens*, 19-9-54, Crémieu (Isère).
LY 3669, sur feuillu, 20-2-1960, Crémieu (Isère).

Test de 1960 :

		Canada « *cinerea* group. »								France *violaceo-livida*		*nuda*	
		53.324		53.325		53.322		53.329		30.677		2640	3388	3669	
		1	4	1	2	1	2	1	2	1	2	1 2	1 2	1 2	
53.324	1			++		++		++		++		−−	−−	−−	
	4			++		++		++		++		−−	−−	−−	
53.325	1					++		++		−−					
	2					++		++		++					
53.322	1							++		+−					
	2							++		++					
53.329	1									++					
	2									−−					

Test de 1955 :

		violaceo-livida		*nuda*		*cinerea* gr.
		742/A	742/B	744/B	1738/2	30.578/1
« *cinerea* gr. »	30.578/1	—	—	—	—	
	30.579/1	—	—	—	—	+
	30.677/1	—	—	—	—	+

Toutes les récoltes canadiennes sont interfertiles, mais aucune n'a donné de boucles avec les 3 souches de *P. violaceo-livida*, et les 3 souches de *P. nuda* testées. Par contre, bien que nous ne l'ayons pas figuré ci-dessus, les différentes récoltes françaises de *P. violaceo-livida* sont interfertiles entre elles, comme les 3 récoltes de *P. nuda*. Il ne s'agit donc pas ici de déficiences d'haplontes, mais très vraisemblablement, une espèce distincte existe au Canada qui ne peut être assimilée à ses proches parentes européennes. Il serait utile de confronter des *P. nuda* et *violaceo-livida* canadiens et européens. Nous n'avons pu disposer que d'une culture polysperme de *P. nuda* (DAOM 52.870) qui n'a pu diploïdiser en phénomène de Buller les haplontes testés de LY 3669 ; ce résultat négatif n'est pas significatif.

F — *Peniophora nuda* (Fr.) Bres.

Souches utilisées :

LY 3669 citée ci-dessus.

LY 3753, sur *Lentiscus*, 21-4-1960, près de Chaouen (Maroc), leg. G. Malençon n° 3696.

3753/1 × 3669/2 —> +
3753/1 × 3669/1 —> +
3753/2 × 3669/2 —> +
3753/2 × 3669/1 —> +

La récolte marocaine sur *Lentiscus* peut donc être identifiée à *P. nuda.*

G — *Peniophora* des conifères :

P. junipericola Erikss., *P. pithya* (Pers.) Erikss., *P. piceae* (Pers.) Erickss., *P. separans* Burt., *P. duplex* Burt., *P. pini* (Schleich. ex. Fr.) Erikss., Boid.

Des études antérieures inédites, faites en collaboration avec M. Tassinari, ont montré que 3 *Peniophora* se rencontraient couramment dans la région lyonnaise sur conifères.

D'une part :

P. pini, sur divers *Pinus*, caractérisé par ses abondantes gloeocystides renflées et ses hyphes gélifiées.

D'autre part deux espèces très affines :

P. pithya, sur *Picea excelsa*, caractérisé par ses petites spores (5-6,5 × 2-2,5 µ) et ses gloeocystides éparses,

P. piceae, sur *Abies pectinata*, caractérisé par ses spores plus grandes, (6,5-9,5 × 1,75-2,25 µ), proportionnellement plus étroites, l'absence de gloeocystides sulfoaldéhydes positives, et par sa marge qui se décolle avec l'âge ; en culture diploïde, les boucles se révèlent très inconstantes.

Les nombreuses confrontations effectuées à partir de récoltes françaises de ces deux dernières ont confirmé la valeur des critères microscopiques signalés ci-dessus tout autant que l'habitat.

Très récemment nous avons récolté sur genévrier un spécimen semblant se rapporter à *P. junipericola*, inconnu jusqu'ici hors de Suède.

1°) *Peniophora junipericola* Erikss.

Bien que les genévriers ne soient pas rares dans les environs de Lyon, des recherches répétées dans le sud du massif du Jura, dans l'Isère, l'Ardèche... n'avaient jamais permis de

récolter cette espèce. Il est vrai que les genévriers sont disséminés sur des coteaux souvent très secs. Seules parmi les espèces brunes ou violacées, *Amylostereum* (ex *Peniophora*) *laevigatum* et de rares *Peniophora lycii* avaient pu être obtenues. Nous avons par contre rencontré, en octobre 1960 dans le sud de la Drôme, abrités sous des pins, de nombreux genévriers de grande taille, en partie morts debout ou qui présentaient de nombreuses branches mortes faciles à briser, porteuses d'un *Peniophora* violacé en petite taches. Comme le laissait supposer l'habitat, et surtout l'action énergique sur le bois de genévrier d'habitude si résistant, l'étude microscopique permettait de le déterminer *Peniophora junipericola*. Pour plus de certitude cependant, la détermination des *Peniophora* sect. *Coloratae* violets étant souvent délicate, nous avons tenté des essais d'interfertilités.

Souches utilisées :

LY 745, sur *Juniperus communis*, 25-4-1951, Uppsala (Suède) leg. et det. J. Eriksson.

LY 3870, sur *Juniperus communis*, récolté le 2-10-1960, forêt de Saou (Drôme).

3870/1 × 745/A —➤ + sur la ligne de contact
3870/2 × 745/A —➤ + sur la ligne de contact et le territoire du 3870/2
3870/3 × 745/A —➤ + sur la ligne de contact
3870/4 × 745/A —➤ + sur toute l'étendue des mycéliums en présence.

Il est donc possible d'affirmer la présence en France, de *Peniophora junipericola* sur le même support qu'en Suède.

2°) Confrontations entre des *P. pithya* originaires du Canada, de Suède, et de France.

Souches utilisées :

LY 743, sur *Picea, Abies*, 10-5-1951, Uppsala (Suède) ; leg. et det. J. Eriksson ; cultures obtenues à Lyon en 1951.

LY 1914, sur *Picea excelsa*, 1-9-1955, Samoëns (Hte-Savoie).

DAOM 31.303, sur *Picea mariana*, 28-7-1954, Northumberland Co, N.B (Canada) ; 4 cultures haploïdes.

DAOM 31.306, sur *Picea sp.*, 7-4-1954, South Branch. (Canada) ; 4 cultures haploïdes.

	31.303		31.306		1914	
	3	5	1	2	10	18
743/B	—	—	—	—	—	—
1914/10	+	—	—	+		+
1914/18	+	+	+	+	+	

Les *P. pithya* canadiens et français sont interfertiles. Il n'en est pas de même pour le n° 743 originaire de Suède, mais ceci semble dû à son âge (9 ans se sont écoulés depuis l'isolement monosperme), car ce même haplonte diploïdisait en 1954 les monospermes du 1656, non cité ici, eux-mêmes interfertiles avec 1914. On peut donc considérer *P. pithya* comme un hôte du genre *Picea* en France, Suède, Canada... Dans cette dernière région, Nobles le signale aussi sur *Larix laricina* et *Pseudotsuga taxifolia.*

3°) *Peniophora piceae* (Pers.) Erikss. et *P. separans* Burt.

L'absence de gloeocystides, et l'inconstance des boucles dans les cultures de *P. piceae* et *separans,* tous deux connus sur conifères, l'un en Europe, l'autre en Amérique, pouvaient laisser supposer plus qu'une parenté. Aussi avons-nous essayé, en phénomène de Buller, la confrontation de 3 cultures polyspermes canadiennes de *P. separans,* avec des haplontes français. Nous décrivons à ce propos la technique, et les précautions nessaires pour qu'une diploïdisation obtenue dans ces conditions soit significative.

Origine des cultures polyspermes canadiennes (*P. separans*) :

DAOM 30.517, sur *Picea glauca,* 28-8-1953, Seebe, Alberta, leg. M. K. Nobles.

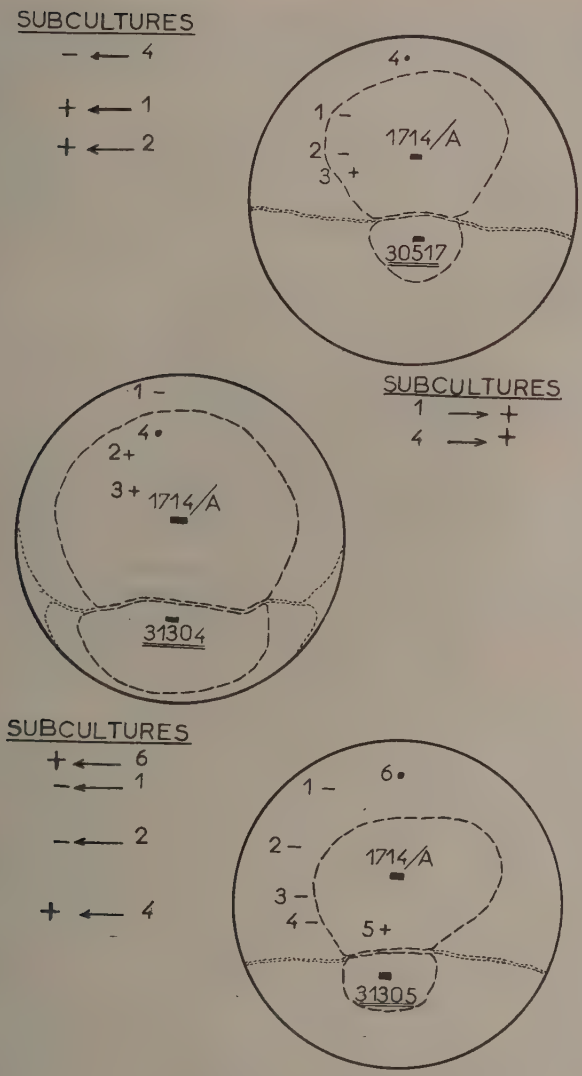
DAOM 31.304, sur *Picea sp.,* 21-7-1954, White Bay District, Newfoundland, leg. M. K. Nobles.

DAOM 31.305, sur *Abies balsamea,* 20-7-1954, même lieu, leg. M. K. Nobles.

Origine des haplontes français utilisés (*P. piceae*) :

LY 1714, sur *Abies pectinata,* 4-9-1954, Rivière-Enverse (Hte-Savoie).

La vitesse de croissance des haplontes de 1714 étant inférieure à celle des diplontes canadiens, l'haplonte est repiqué en boîte de Pétri le 19 janvier 1960, le diplonte le 2 février. Ils sont en contact dès le 9 février. La délimitation des surfaces occupées par chaque culture ou tout au moins la ligne d'affrontement est dessinée au crayon gras sur le fond de la boîte. Le



------- Limite de croissance le 9-2-60.
..... Limite de croissance le 15-2-60.
— Absence de boucles le 10-3-60.
\+ Présence de boucles le 10-3-60.

Les prélèvements qui n'ont pas montré de boucles (-) et des prélèvements complémentaires (.) ont fait l'objet de subcultures observées le 18-3-60 dont les résultats figurent d'un côté ou de l'autre des boites.

10 mars, soit un mois après le contact, des prélèvements sont effectués à plus ou moins grande distance de la ligne frontière et observés. La figure I indique la place de chacun d'eux et le résultat de l'observation microscopique (10). L'inconstance des boucles rend leur recherche difficile. Aussi, si le prélèvement ne montre pas d'anses, un autre prélèvement fait à proximité immédiate est transféré aseptiquement soit sur une lame gélosée, soit dans un tube de culture. Il est ensuite facile de rechercher les boucles, à la marge, sur les grands axes en croissance.

Résultats après étude des subcultures :

1714/A × DAOM 30.517 → +
1714/A × DAOM 31.304 → +
1714/A × DAOM 31.305 → +
1714/B × DAOM 30.157 → +
1714/B × DAOM 31.304 → +
1714/B × DAOM 31.305 → +

Le nom de *P. separans* Burt est donc synonyme de *P. piceae*, Remarquons que si ce dernier semble, jusqu'ici, inféodé en Europe au sapin (*Abies pectinata* = *A. alba*), en Amérique il a été récolté aussi bien sur *Abies balsamea* que sur *Picea glauca, Pseudotsuga taxifolia* et même sur *Pinus contorta* var. *latifolia, Thuya plicata, Tsuga heterophylla* (Nobles 1956).

4°) *Peniophora pini* et *Peniophora duplex.*

Le cas des « *Stereum* » *pini* et *P. duplex* a été étudié conjointement à Ottawa et à Lyon et les résultats que nous résumerons succinctement concordent avec ceux beaucoup plus nombreux obtenus par L. K. Weresub et S. Gibson (1960).

Comme pour ces auteurs, les *St. pini* canadiens ont refusé de donner des boucles en présence de *P. pini* français ; de même vis-à-vis d'un *Stereum pini* d'Esthonie (LY 3603, sur *Pinus silvestris,* 29-10-1959, Marju (Eston. S.S.R.) leg. et det. E. Parmasto n° 10.040). Par contre ce dernier s'est révélé interfertile avec *P. pini* français (LY 1999, sur *Pinus silvestris,* 10-9-1955, St-Péray (Ardèche). Des résultats positifs sporadiques ont été obtenus par confrontation de *P. pini* 1999 avec *P. duplex* (notamment DAOM 53.385, sur *Pinus banksiana,* 12-8-1959, Petawawa, Ontario (Canada), leg. et det. Weresub et Gibson). On est donc en droit, comme l'ont fait nos collègues

(10) Le signe + indique évidemment la présence de boucles. On notera que chaque prélèvement est numéroté de 1 à 6.

canadiens, de ranger dans la même espèce *P. pini* européen et *P. duplex* (*P. pini subsp. pini*, *P. pini subsp. duplex*) et d'en distinguer l'ex *Stereum pini* américain (*P. pseudopini* Weres. et Gibs).

Il est donc curieux de constater que le « *Stereum* » *pini* vrai était rangé en Amérique dans le genre *Peniophora* (12) sous le nom de *P. duplex*.

H — « *Peniophora* » *mutata* (Peck.).

Alors qu'en France seul est signalé *Peniophora mutata*, Mac Keen (1952) au Canada confirme par des essais d'interfertilité et stérilité l'existence de trois espèces affines : *P. mutata* (Peck.) Hoehn. et Litsch., *heterocystidia* Burt, et *populnea* (Peck.) Burt, dont les cultures possèdent toutes des conidies naissant sur des têtes oedocephaloïdes. Ayant eu l'occasion de récolter à plusieurs reprises un *Peniophora* de ce groupe (rangé par les systématiciens modernes dans le genre hétérogène *Hyphoderma*), nous avons voulu tenter la confrontation avec les haplontes de Mac Keen.

Souches françaises :

LY 3253 *Hyphoderma mutatum* (Peck.), sur *Cerasus*, 28-8-1959, Rivière-Enverse (Haute-Savoie).

LY 3432 *Hyphoderma mutatum* (Peck.), sur *Fagus silvatica*, 17-9-1959, Superbagnères (Hte-Garonne).

Cultures haploïdes dérivées des spécimens canadiens suivants :

DAOM 17.216 *Pen. heterocystidia* Burt, sur *Carpinus sp.*, 26-9-1946. Don Valley near Sunnybrook Park, Ontario (Canada) ; det. H. S. Jackson.

DAOM 17.550 *Pen. mutata* (Peck.), sur tronc, 9-9-1947, Hermit Trail, Gatineau Park, P. Q. (Canada), leg. et det. C. G. McKeen,

DAOM 17.559 *Pen. populnea* (Peck.) sur *Populus sp.*, 27-9-1947, Summit Gulf Club, North of Richmond Hill, Ontario (Canada), det. H. S. Jackson.

Après avoir constaté que les souches françaises sont totalement interfertiles, seul le 3432 a d'abord été confronté avec les haplontes des trois espèces canadiennes.

(12) J. Eriksson (1958, p. 119) préfère placer dans le genre *Sterellum* les ex *Stereum pini* et *rufum*. A notre avis, l'exclusion de ces deux espèces du genre *Peniophora* ne s'impose pas, les deux *Sterellum* possédant eux aussi des spores orangées en masse, des gloeocystides violemment sulfoaldéhydes positives...

Les résultats sont très nets :

3432/a et /b × 17.216/1, /6, /8 → toutes —
3432/a et /b × 17.550/1 et /3 → toutes +
3432/a et /b × 17.559/2 et /3 → toutes —

L'espèce européenne dénommée *P. mutata* est bien identique à l'espèce américaine de même nom.

I — *Phlebia radiata* Fr., *merismoides* Fr.

Souches utilisées :

LY 221 sur feuillu, 11-12-1948, La Tour de Salvagny (Rhône).
DAOM 22.793, on *Acer sp.*, 15-9-1949, Bell's Corners, Ontario (Canada).

Les confrontations tentées entre quatre haplontes de *Ph. merismoides* et deux haplontes de *Ph. radiata* (= *aurantiaca*) ont été rapidement positives. Les trois espèces distinguées par Fries sur des caractères physionomiques inconstants ne représentent qu'une seule espèce répandue en Europe, Amérique, Afrique du Nord...

Comparaison de quelques résultats en fonction de l'ancienneté des cultures utilisées.

Bien qu'il soit impossible, comme nous l'avons dit précédemment, de tirer parti des résultats négatifs sans essais nombreux et répétés, nous citerons cependant, pour en discuter, les échecs suivants en phénomène de Buller :

P. quercina, aurantiaca, Laxitextum bicolor (= *Stereum fuscum*) et *Amylostereum chailletii*. Il s'agissait chaque fois de la mise en présence de diplontes canadiens et d'haplontes français.

Les tableaux ci-dessous donnent l'année d'obtention des cultures toutes confrontées au cours du premier semestre 1960, et le pourcentage des résultats positifs. Les chiffres de l'avant dernière colonne intitulée « Ancienneté » sont obtenus comme suit :

Ancienneté en années du diplonte (1960 — année de la récolte) + ancienneté des haplontes (1960 — année de l'isolement), soit par ex. pour *P. polygonia* :

(1960 — 1951) + (1960 — 1960) = 9

	Année de mise en culture		Ancienneté	% de diploïdisation
	Diplontes étrangers	Haplontes francais		
P. polygonia.....	1951	1960	9	75 %
P. separans/piceae.	1953/54	1954	12-13	100 %
P. incarnata.....	1946	1956/58	16-18	20 %
P. aurantiaca.....	1952	1954	14	0
	1952	1949	19	0
Lax. bicolor.....	1951/53	1950	17-19	0
Am. chailletii.....	1948/49	1949	22-23	0
P. quercina.....	1938	1958	24	0

Il ne faut certes pas tenir un compte rigoureux du pourcentage de diploïdisation, celui-ci dépendant beaucoup des cultures observées, des points de prélèvements et de leurs dates, de la réceptivité originelle des haplontes... On peut noter cependant un certain parallèlisme entre l'âge des cultures et les résultats. Il conviendrait pour garder des chances sérieuses de succès dans les conditions habituelles de travail de n'employer que des cultures totalisant moins de 12 à 15 ans d'ancienneté.

Un tableau de même genre est peut-être plus intéressant pour des essais de diploïdisation simple, car ici les résultats sont beaucoup plus faciles à affirmer, des subcultures à partir de la ligne de contact faite régulièrement après un mois ne laissant aucun doute sur le résultat positif ou négatif de la confrontation. Les pourcentages de diploïdisation sont donc beaucoup plus significatifs ; il aurait fallu cependant, pour établir des conclusions sur une solide base statistique, des essais beaucoup plus nombreux pour chaque espèce et chaque souche testée.

Ici encore l'ancienneté joue un rôle non négligeable, mais la sensibilité varie avec le champignon. *Hyphoderma mutatum* et *Phlebia radiata* gardent tout leur pouvoir de diploïdisation à un âge auquel les *Peniophora* ne copulaient plus. Si on compare les résultats obtenus avec *P. pithya* d'une part, et les deux sous-espèces *pini* et *duplex* de *P. pini* d'autre part, on constate une nette différence due peut-être à l'écart sous-spécifique ! On pourrait aussi se demander si, à ancienneté totale égale, la présence d'haplontes très récents n'influe pas favorablement sur la diploïdisation.

Certes un grand nombre de facteurs seraient à considérer pour une étude approfondie (conditions d'entretien des souches par ex.)... Nous n'avons voulu ici que signaler le rôle possible de l'âge des cultures lors d'essais routiniers d'interfertilité.

	Année de l'isolement des haplontes			Ancienneté	% de diploïdisation
	Étrangers	Pays d'origine	Français		
P. nuda.....	1960	Maroc	1960	0	100 %
P. «cinerea gr.»	1959	Canada (13)		2	100 %
»	1955 et 59	Canada (13)		6	68,7 %
P. lycii.....	1960	Maroc	1955	5	100 %
P. versicolor...	1960	Maroc	1954	6	100 %
P. pini.....	1959	Esthonie	1955	6	100 %
P. duplex.....	1959 et 55	Canada (13)		6	87 %
P. duplex/pini..	1959	Canada	1955	6	65 %
»	1955	Canada	1955	10	faible
»	1955	Canada	1955	11	0
P. junipericola.	1951	Suède	1960	9	environ 100 %
P. pithya.....	1954	Canada	1955	11	75 %
»	1954	Canada	1951 (14)	15	0
Hyph. mutatum	1947	Canada	1959	14	100 %
Phlebia radiata / merismoides	1949	Canada	1948	23	100 %

Remerciements.

Ce travail a été en grande partie possible grâce à la collaboration amicale de Collègues éloignés.

Nos remerciements vont tout spécialement à M[lles] M. K. Nobles, L. Weresub, S. Gibson d'Ottawa pour l'envoi de spécimens vivants et de cultures canadiennes mono- et polyspermes, ainsi qu'à MM. G. Malençon de l'Institut chérifien de Rabat, R. Bertault de Tanger, J. Eriksson de Värnamo (Suède), B. masto de Tartu (Esthonie), desquels nous tenons quelques très intéressants spécimens fraîchement récoltés et qui ont permis d'obtenir sporée et cultures à leur arrivée à Lyon. Nous avons signalé dans le cours du travail la collaboration de M[lle] A. Bénichou pour la détermination de deux polarités.

(13) Confrontations entre haplontes canadiens issus de carpophores différents.
(14) Suédois.

Conclusions.

Les auteurs ont tout d'abord voulu intégrer les données nouvelles des années 1956-60 concernant la polarité, puis leurs propres résultats résumés ci-après, dans le cadre systématique en pleine évolution des *Thelephoraceae* s. l.

	Hétérothallie ou Homothallie	Nombre de monospermes utilisés
	—	—
Peniophora		
versicolor Bres.	IV	19
tamaricicola Boid. et Malençon	IV	10
decorticans Burt	IV	10
albo-badia (Schw. ex Fr.) Boid.	IV	10
Hyphodontia		
quercina (Pers.) Eriksss.	IV	10
papillosa (Fr.) Eriksss.	IV	10
crustosa (Pers. ex Fr.) Eriksss.	IV	22
Radulomyces		
confluens (Fr.) Christ.	IV	11
repandus (Fr.) Boid.	IV	10
Laxitextum		
bicolor (Pers. ex Fr.) Lentz	IV	10
Lopharia		
cinerascens (Schw.) Cunningh.	IV	10
Xylobolus sp.	II	50
« *Stereum* » *Murraii* (Berk. et Curt.) Burt	IV	16
Stereum		
complicatum (Fr.) Fr.	Hom.	25
ostrea (Blum. et Nees. ex Fr.) Fr.	Hom.	16
Helicogloea farinacea (Höhn.) Rogers	Hom.	49

Quelques conclusions se dégagent de cette accumulation de documents. Les caractères de polarité ont un grand intérêt systématique et permettent, de conserve avec les autres critères, de préciser les affinités.

Les faux *Stereum pini, albo-badium*..., ont non seulement des caractères physionomiques, microscopiques et chimiques.... communs avec les *Peniophora* s. str., mais sont en outre comme eux tétrapolaires. Les vrais *Stereum* se confirment au contraire homothalles. Les genres *Hyphodontia, Radulomyces, Laxitextum*, se sont révélés tétrapolaires, le genre *Xylobolus* bipolaire, tandis que le genre *Phlebia* ss. Donk s'est affirmé à

nouveau à des auteurs éloignés comme bipolaire, confirmant les règles et extrapolations exprimées par l'un de nous (1956, p. 128).

Dans la deuxième partie de cet exposé, des essais d'interfertilité ont été tentés en diploïdisation simple ou en phénomène de Buller. Ils le furent notamment entre récoltes françaises et canadiennes, ou françaises et marocaines, dans le but de confirmer les déterminations.

Ces essais ont eu pour résultat de confirmer l'identité de quelques espèces françaises et étrangères (*P. lycii, P. versicolor, P. nuda* du Maroc, *P. pithya, polygonia, incarnata, Hyph. mutatum, Ph. radiata* du Canada) bien qu'elles habitent sur des hôtes différents dans ces contrées. Ils ont permis en outre de synonymiser *P. separans* avec *P. piceae* ; par contre ils semblent signifier qu'une espèce canadienne spéciale *Pen.* « *cinerea gr.* » intermédiaire entre les *P. nuda* et *violaceo-livida* doit être proposée comme nouvelle. Nous laisserons ce soin à nos Collègues canadiens.

Laboratoire de Microbiologie et Mycologie
de la Faculté des Sciences de Lyon.

BIBLIOGRAPHIE.

ALAMANDY (C.) et NOVEL (G.). 1958. — Polarité de quelques Homobasidiomycètes saprophytes. *Ann. Univ. Lyon C.*, 10, 51-64.

BARNETT (H. L.). 1937. — Studies in the sexuality of the *Heterobasidiae*. *Mycologia*, 29, 626-649.

BOIDIN (J.). 1956. — Polarité dite « sexuelle » et systématique chez les Basidiomycètes Théléphoracés. *Revue de Mycologie*, 21, (2-3) 121-131.

BOIDIN (J.) 1958 a. — Essai Biotaxonomique sur les Hydnés résupinés et les Corticiés. Etude spéciale du comportement nucléaire et des mycéliums. Thèse. Lyon 15 Janvier 1954. *Revue de Mycologie, Mémoire Hors-Série* n° VI, in-8°, 1958, 390 p., 103 fig., 10 pl.

BOIDIN (J.). 1958 b. — Hétérobasidiomycètes saprophytes et Homobasidiomycètes résupinés. IV — Les « *Peniophora* » Section « *Coloratae* » B. et G. a dendrophyses. *Bull. Soc. Mycol. France*, 74, 436-481.

BOIDIN (J.). 1959. — id. — VII — Essai sur le genre *Stereum* sensu lato (troisième contribution). *Bull. Soc. Linn. Lyon*, 28, 205-222.

CHRISTIANSEN (M. P.). 1960. — Danish Resupinate Fungi, Part II Homobasidiomycetes. *Dansk Bot. Ark.*, 19, 61-388.

ERIKSSON (J.). 1950. — *Peniophora* Cke. section *Coloratae* Bourd. et Galz. A taxonomical study with special reference to the swedish species. *Symb. Bot. Ups. X* : 5, 76 p.

ERIKSSON (J.). 1950. — Studies in the Heterobasidiomycetes and Homobasidiomycetes-Aphyllophlorales of Muddus National Park in North Sweden. *Symb. Bot. Ups.*, 16, 172 p.

HARMSEN (L.), BAKSHI (B. K.) et CHOUDURY (T. G.). 1958. — Relationship between *Merulius lacrymans* and *M. himantioides*. *Nature*, 181, 1011.

HWANG (S. W.). 1955. — Compatibility and variability in *Merulius americanus*. *Mycologia*, 47, 317-328.

MACKEEN (C.). 1952. — Studies of Canadian *Thelephoraceae* IX — A cultural and taxonomic Study of three species of *Peniophora*. *Canad. J. Bot.*, 30, 764-787.

MACRAE (R.). 1955. — Cultural and interfertility Studies in *Aporpium caryae*, *Mycologia*, 47, 812-820.

MAXWELL (M. B.). 1954. — Studies of canadian Thelephoraceae XI — Conidium production in the Thelephoraceae. *Canad. Journ. Bot.*, 32, 259-280.

NOBLES (M. K.). 1956. — Studies in wood-inhabiting Hymenomycetes III — *Stereum pini* and species of *Peniophora* sect. *Coloratae* on conifers in Canada. *Can. J. Bot.*, 34, 104-130.

NOBLES (M. K.), MACRAE (R.) et TOMLIN (B. P.). 1957. — Results of interfertility tests of some species of Hymenomycetes. *Can. J. Bot.*, 35, 377-387.

NOVEL (G.). 1958. — (Voir ALAMANDY).

TASSINARI (M.). 1956. — Recherches sur la polarité de vingt-trois Théléphoracées. *C. R. Acad.*, 242, 2661-2662.

TERRA (P.). 1953. — Détermination de la polarité sexuelle de trente espèces de Basidiomycètes saprophytes. *C. R. Acad.*, 236, 115-117.

WERESUB (L. K.) et GIBSON (S.). 1960. — « *Stereum pini* » in North America, *Canad. J. Bot.*, 38, 833-867.

YEN (H. S.). 1947. — Recherches expérimentales sur la sexualité des Calocérales. *C. R. Acad.*, 225, 1367-1368.

YEN (H. S.). 1950. — Contribution à l'étude de la sexualité et du mycélium des Basidiomycètes saprophytes. Thèse. Lyon. *Ann. Univ.* 131 p.

RECHERCHES SUR LES PIGMENTS DES AGARICALES.

V. — Troisième contribution à l'étude des pigments des Cortinaires des groupes *Sanguinei* et *Cinnamomei* (Elegantes Fries),

par M^me^ M. GABRIEL.

A. Analyse des spectres d'absorption des pigments et considérations sur leur structure chimique.

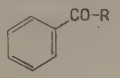
Les pigments des Cortinaires des groupes *Sanguinei* et *Cinnamomei* extraits à l'alcool éthylique et séparés par chromatographie sur papier (1) présentent les réactions des hydroxyanthraquinones, réaction de Bornträger aux alcalis et réaction de Shibata à l'acétate de Mg (2). L'un d'eux a été identifié comme étant l'émodine (3), c'est le pigment n° 1 du chromatogramme (par ordre de Rf décroissant). Le pigment n° 3, par son Rf et par son spectre, s'est révélé très voisin de l'émodine. Par contre, les autres pigments étudiés ici, n° 4, 5, 6 et 9 se distinguent des précédents par la simplicité de leur spectre en U.V. (deux maxima au lieu de quatre) et par leur insolubilité dans les solvants non polaires.

Il nous a semblé probable qu'il existait une relation entre ces caractères d'absorption et de solubilité et la structure de l'anthraquinone. Différents auteurs (4) se sont intéressés au spectre de l'anthraquinone et aux modifications de ce spectre en fonction des substituants. Nous avons rassemblé les simples remarques et règles précises éparses dans la littérature concernant cette question afin de tirer des indications quant à la structure de nos pigments.

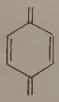
Spectre d'absorption de l'anthraquinone — Influence des substitutions.

Morton et Earlam en 1941, Peters et Sumner en 1953 (4) expliquent les différents maxima du spectre des anthraquinones par la présence dans le noyau anthraquinonique, de deux

systèmes chromophores différents, d'une part le système carbonyl benzénique (ou acétophénone) :



d'autre part le système « quinonoïde » :



Pour l'anthraquinone proprement dite, les maxima à 243, 252 et 325 mμ sont dus au système acétophénone, le système « quinonoïde » étant responsable des maxima à 262 — 272 mμ et de l'inflexion à 405 mμ.

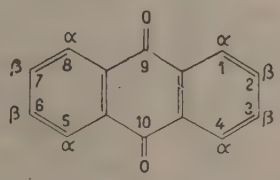
L'introduction de substituants tels que les groupes —OH, provoque des modifications importantes : altération de la contribution de l'un ou l'autre des systèmes chromophores, accroissement ou diminution de l'intensité de certains maxima, enfin déplacement de ces maxima vers les plus grandes longueurs d'onde. Après examen de nombreux exemples cités par différents auteurs, nous pensons pouvoir fixer les limites de déplacement des maxima dans les zones suivantes :

Maxima de caractère benzénique : de 240 à 260 mμ et de 320 à 350 mμ ;

Maxima de caractère « quinonoïde » : de 260 à 295 mμ et de 400 à 550 μ.

Ajoutons que de 210 à 230 μ se situe une bande d'absorption due, d'après Morton, à l'effet simultané des deux chromophores.

Ces modifications ne résultent pas seulement du nombre de —OH introduits, mais aussi de leur position en α ou β dans le



noyau anthraquinonique, et elles affectent surtout et différemment les trois bandes 240-260 mμ, 260-295 mμ et 400-550 mμ.

Dans la bande 260-295 mμ, l'absorption est nettement accrue par les —OH β et diminuée par les —OH α.

Le comportement du maximum de la zone 240-260 mμ a été moins remarqué ; en effet, l'absorption en valeur absolue varie peu (MORTON a signalé une atténuation plus grande de l'absorption pour les substituants β que pour les substituants α) ; cependant l'allure de la courbe dans cette région est très

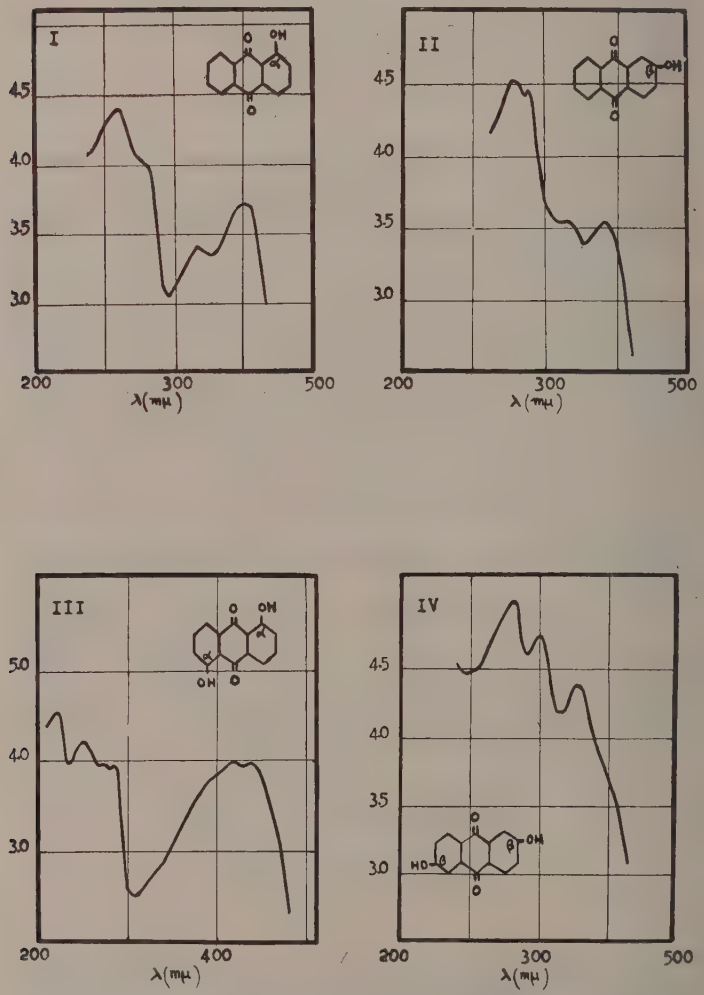


FIG. 1. — Courbes d'absorption d'hydroxyanthraquinones d'après MORTON [4]. Influence de la position α ou β des groupes —OH.

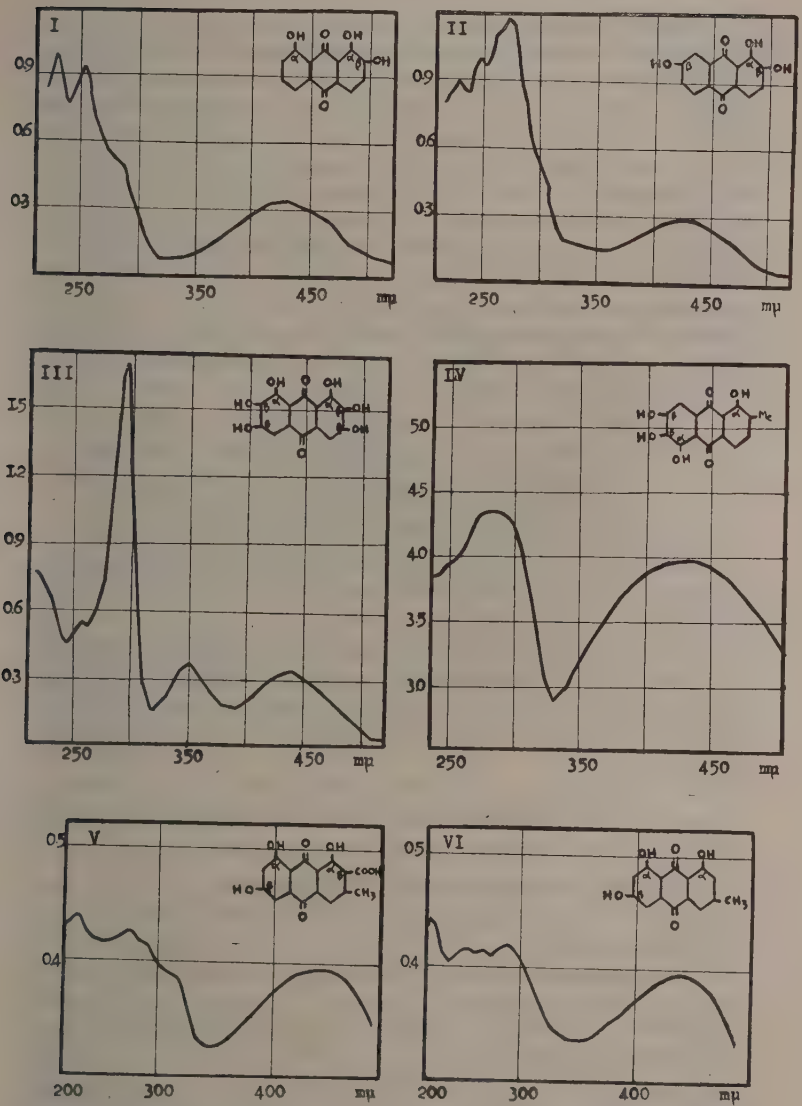


FIG. 2. — Courbes d'absorption d'hydroxyanthraquinones. Influence de la position des groupes —OH ou du groupe COOH.

I, II, III : spectres d'après GABRIEL M.*

IV : spectres d'après BRIGGS [4], capréolatine

V, VI : spectre d'après FRANCK et RESCHKE [5], V : endocrocine, VI : émodine.

* A partir d'échantillons aimablement fournis par le Professeur LICHTENBERGER.

différente selon la position α ou β des —OH : dans le premier cas, le spectre montre un net maximum ; dans le deuxième cas, le maximum s'atténue jusqu'à n'être plus qu'une simple inflexion comme on peut le voir d'après les exemples ci-après (voir fig. 1 et fig. 2). Il est à remarquer, bien que nous n'ayons qu'un seul exemple à l'appui (comparaison de l'endocrocine avec l'émodine (fig. 2), que l'introduction d'un groupe —COOH en β semble faire disparaître l'absorption benzénique. Quant à l'absorption dans la bande visible 400-550 mμ, elle est liée à la position en α des —OH. Tous les auteurs sont d'accord pour constater une augmentation nette de l'intensité avec les OH en position α, alors que les OH en β ont peu d'effet. En outre Briggs (4) a souligné l'importance du nombre des OH sur le déplacement du maximum :

pas de OH en α : un maximum de 356 à 362 mμ
un OH en α : un maximum de 407 à 413 mμ
deux OH en α : un maximum de 427 à 432 mμ
trois OH en α : deux maxima vers 490 et vers 510 mμ ;

Gatenbeck (4) a signalé, et nous avons vérifié, que la position en para de deux hydroxyles α (position 1-4 ou 5-8) produit le même effet que trois OH en α.

En résumé, la région U.V. du spectre des polyhydroxyanthraquinones et plus précisémment les bandes 240-260 mμ et 260-295 mμ renseignent sur la présence d'hydroxyles en α ou β alors que la région visible de ce spectre permet d'apprécier le nombre de OH en α.

Analyse des spectres d'absorption et conclusions relatives a la constitution chimique des pigments.

Examinons maintenant les courbes d'absorption de nos pigments (voir fig. 3, 4, 5, 6, 7 et 8). Les spectres sont pris au spectrophotomètre de Jobin et Yvon dans l'éthanol à 95° redistillé. Les pigments ont été obtenus purs par différents procédés, dont la chromatographie sur papier. Leur pureté a toujours été vérifiée par chromatographie sur papier. Certains ont cristallisé (les n° 1, 3, 4).

L'absorption en U.V. montre pour tous les pigments deux maxima bien marqués, l'un situé entre 215 et 230 mμ (bande 210-230), l'autre entre 272 et 289 mμ (bande 260-295). L'émodine et le pigment jaune n° 3 possèdent deux autres maxima 252 et 262 mμ (bande 240-260), alors que les pigments n° 4, 5

et 9 ne donnent à ces longueurs d'onde que des inflexions (n° 4 à 252 et 262, n° 9 à 260, n° 5 à 240) et que le n° 6 ne présente rien. Le maximum du groupe benzénique est donc absent ou très réduit pour ces pigments, ce qui laisse prévoir un nombre de —OH β pour le moins égal au nombre de —OH α.

Quant à la partie visible du spectre, elle nous confirme pour l'émodine la présence de deux — OH α (règle de Briggs), et permet de penser qu'il en est de même pour les pigments n° 3, 6 et 9, alors que les pigments n° 4 et n° 5, absorbant respectivement à 485 et 510 mμ et à 495 et 530 mμ, auraient trois —OH en position α ou deux —OH α situés en para. Une telle constitution est d'ailleurs en accord avec la remarque de Asahina et Shibata sur les anthraquinones isolées des champignons et des lichens, ces anthraquinones possèdent toujours deux hydroxy ou méthoxy en α.

En résumé le pigment jaune n° 3 posséderait comme l'émodine deux —OH α et un —OH β ; les pigments jaunes n° 6 et 9 deux —OH α (non situé en para) et au moins deux —OH β ; les pigments mauves n° 4 et 5 deux —OH α en position para ou trois —OH α et deux ou trois —OH β.

Les pigments n° 4, 5, 6, 9 seraient des dérivés tétra, penta ou hexa hydroxylés, n'étant pas exclue en outre la possibilité d'avoir un —COOH en place d'un —OH. Rappelons que Kögl a isolé du *C. sanguineus*, en même temps que l'émodine, une anthraquinone de formule partiellement connue, la Dermocybine qui serait une penta hydroxyanthraquinone. De telles anthraquinones ne semblent pas exceptionnelles chez les champignons et les lichens ; citons le bolétol, la tritisporine, la cynodontine, l'endocrocine, l'acide rhodocladonique.

B. Comparaison des stocks pigmentaires de *C. conformis* (Fr.) et *C. malicorius* (Fr.). Identification à un anthranol du pigment des masses jaunes caractéristiques de certains *Cinnamomei*.

Depuis notre précédent travail sur la pigmentation des Cortinaires des groupes *Sanguinei* et *Cinnamomei* (I), R. Kühner a distingué deux espèces longtemps confondues par lui et d'autres mycologues, *C. conformis* (Fr.) et *C. malicorius* (Fr.) (6). Ces deux espèces se ressemblent beaucoup et le moyen le plus expéditif pour les séparer est l'examen microscopique des lames, *C. conformis* possédant des masses pigmentaires jaunes frappantes alors que *C. malicorius* en est dépourvu.

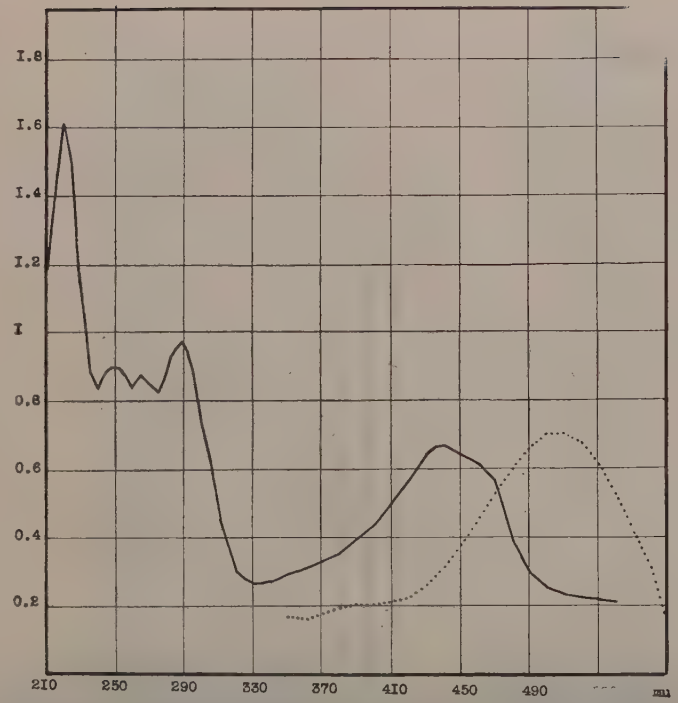


Fig. 3. — Courbe d'absorption du pigment n° 1 (émodine).

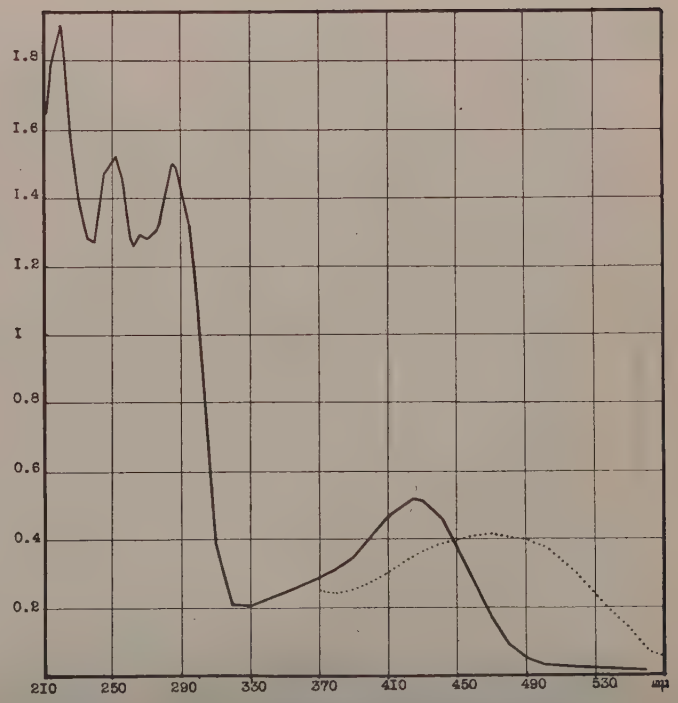


Fig. 4. — Courbe d'absorption du pigment n° 3.

En trait continu : pigment dans l'éthanol à 95°, en pointillés : pigment dans l'acétate de Mg à 0,5 %.

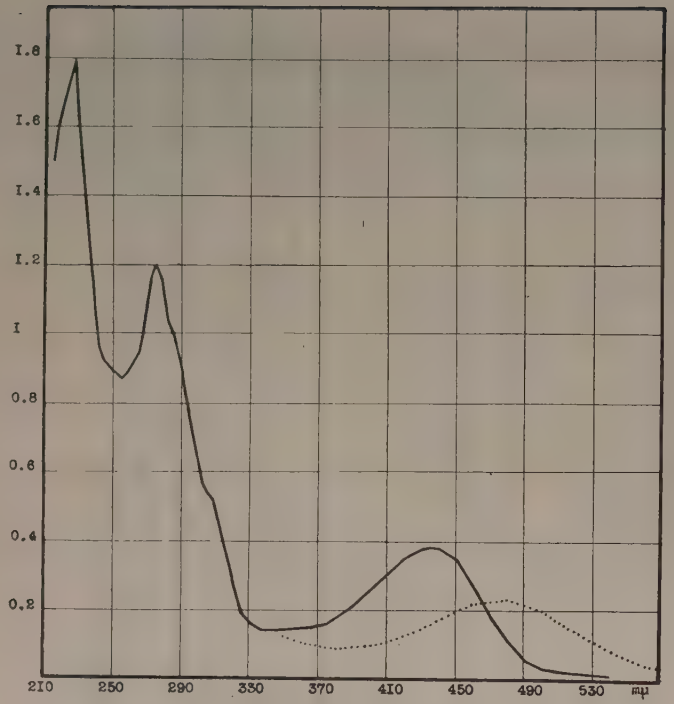


FIG. 5. — Courbe d'absorption du pigment n° 6.

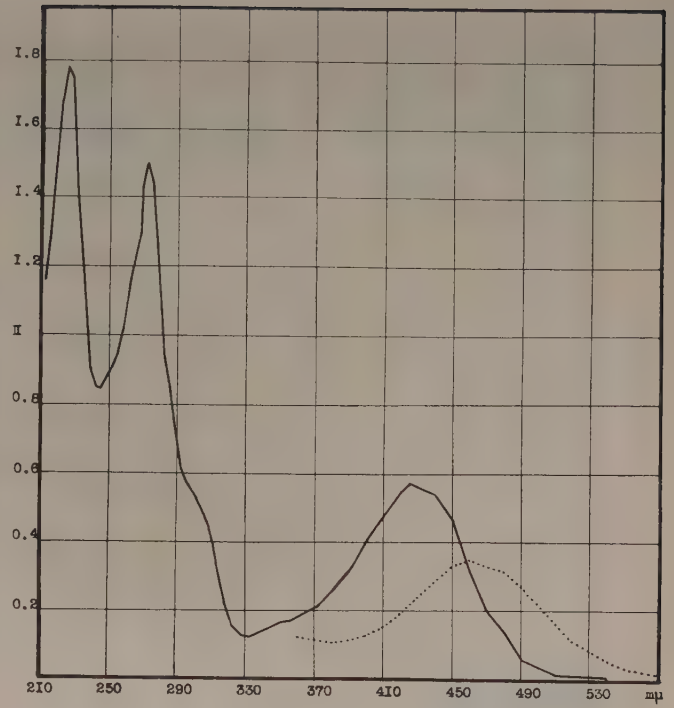


FIG. 6. — Courbe d'absorption du pigment n° 9.

En trait continu : pigment dans l'éthanol à 95°, en pointillés : pigment dans l'acétate de Mg à 0,5 %.

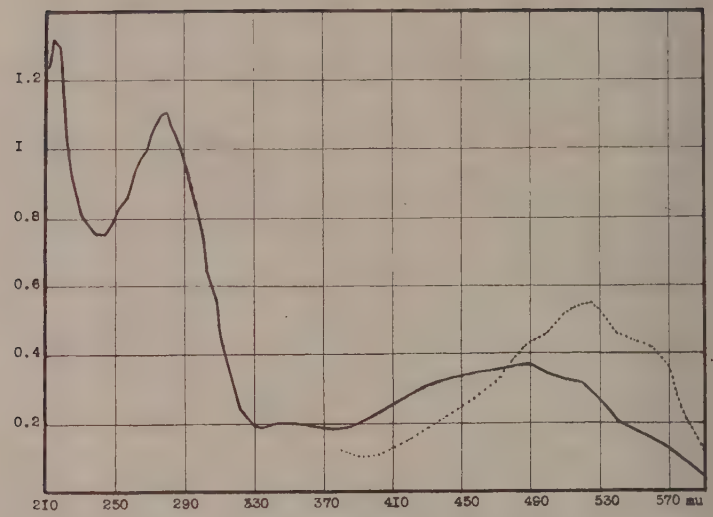


FIG. 7. — Courbe d'absorption du pigment n° 4.

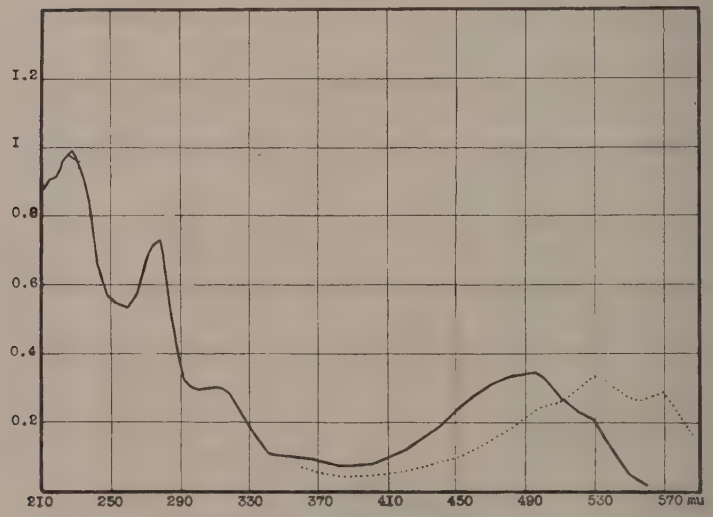


FIG. 8. — Courbe d'absorption du pigment n° 5.

En trait continu : pigment dans l'éthanol à 95°, en pointillés : pigment dans l'acétate de Mg à 0,5 %.

Nous avons effectué, avec le même solvant que précédemment, la chromatographie comparée de ces deux espèces rigoureusement séparées au préalable par examen microscopique. Seul *C. Conformis* possède, et en abondance, le pigment jaune n° 2' déjà trouvé chez *C. lutescens* et *uliginosus* (I) mais il est dépourvu d'émodine et de son pigment voisin jaune n° 3 ; par contre, *C. malicorius* est riche en émodine et pigment n° 3, (cette espèce est la seule de tous les *Cinnamomei* à posséder ces deux pigments).

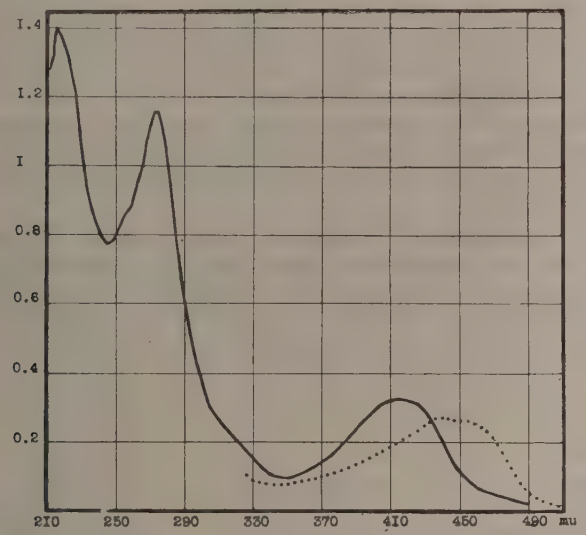


Fig. 9. — Courbe d'absorption du pigment n° 24 (anthranol) dans l'éthanol à 95°.
En pointillés courbe d'absorption du pigment oxydé.

C'est le pigment n° 2' qui constitue les masses pigmentaires jaunes et non pas, comme nous l'avions suggéré dans notre précédent travail, le pigment jaune n° 9, (qui se trouve d'ailleurs dans *C. malicorius*). Jusqu'à nouvel ordre, nous nous expliquons l'absence de ce pigment 2' dans les chromatogrammes de *C. sphagneti*, qui possède pourtant les masses jaunes, par le fait que notre étude a porté sur des carpophores en grande partie très âgés et mouillés, ceux sur lesquels D. Lamoure a remarqué une altération des masses jaunes sous le microscope (7).

Nous avons pu séparer ce pigment 2' de l'ensemble des autres pigments par simple extraction au chloroforme à l'appareil de Soxhlet. Ce pigment, d'abord jaune vert sur le chromatogramme, s'altère rapidement et, contrairement aux autres, sa teinte varie peu en présence de NH3, virant au jaune orangé terne ; de plus il ne réagit pas à l'acétate de Mg.

L'ayant obtenu en grande quantité et pur à partir de *C. conformis* et de *C. lutescens*, nous avons pu vérifier pour ces deux espèces qu'il ne présente pas la réaction de Bornträger (réaction aux alcalis), par contre il donne nettement la réaction de Tunmann (8) caractéristique des anthrones et anthranols : si on ajoute à la solution chloroformique le réactif de Mecke (SO_4H_2 + a. sélénieux), une teinte bleu vert apparaît qui devient assez rapidement bleu noir.

Ce pigment oxydé par l'eau oxygénée en milieu alcalin donne un pigment de Rf très voisin, mais qui réagit nettement aux vapeurs de NH3 (teinte rouge) et qui devient rose en présence d'acétate de Mg.

Enfin, l'examen du spectre en visible montre un déplacement du maximum d'absorption vers les grandes longueurs d'onde de 415 à 440 mμ quand le pigment passe de la forme réduite à la forme oxydée (voir fig. 9). Tous ces faits concourent à montrer que le pigment isolé est bien un anthranol.

Laboratoire de Microbiologie et de Mycologie
de la Faculté des Sciences de Lyon.

BIBLIOGRAPHIE.

1. Gabriel (Mme M.). — *Ann. Univ. Lyon Section C*, fasc. XI-XII, p. 67-76.
2. Shibata (S.). — *J. Am. Chem.*, 1950, 72, p. 2789.
3. Kogl (F.) et Postowski. — *Ann.*, 444, 1925, p. 1-7.
   Gabriel (Mme M.). — *Bull. Soc. Mycol. Fr.*, 1960, 76 (2), p. 208-215.
4. Morton et Earlam. — *J. Chem. Soc.*, 1941, p. 159.
   Spruit. — *Rec. Trav. chim.*, 1949, 68, p. 325.
   Briggs Nicholls et Paterson. — *J. Chem. Soc.*, 1952, p. 1718.
   Peters et Sumner. — *J. Chem. Soc.*, 1953, p. 2101.
   Birkinshaw (J. H.). — *Biochem. J.*, 1955, 59, n° 3, p. 485-86.
   Gatenbeck. — *Acta Chem. Scand.*, 1959, 13, n° 44, p. 705.
5. Franck (B.) et Reschke (T.). — *Chem. Ber. Dtsch.*, 1960, 93, n° 2, p. 347-56.
6. Kühner (R.). — *Bull. Soc. Linn.*, Lyon 1960, 29, n° 9, p. 261-63.
7. Lamoure (Mlle D.). — *Bull. Soc. Linn.*, Lyon 1960, 29, n° 9, p. 264.
8. Tunmann (O.). — *Apoth. Ztg.*, 1915, 30, p. 517-25.

MESURE DE L'ACTIVITÉ FONGICIDE COMPARÉE DE SUBSTANCES A STRUCTURES CHIMIQUES VOISINES.

Première application à quelques dérivés organo-phosphorés,

par Claude et Mireille MOREAU.

Résumé.

Pour l'étude de la toxicité de corps purs à formules proches, les auteurs proposent l'élargissement de leur test sur la répression de la phase linéaire de croissance. Ils utilisent des Champignons systématiquement très différents : *Pythium splendens*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Fusarium roseum* f. *culmorum*, *Rhizoctonia solani*, pour accroître le nombre des réponses possibles.

Une application de la technique consiste dans la discussion des relations entre l'activité fongicide et la structure chimique de quelques dérivés des acides ortho- et pyrophosphoriques.

Les résultats obtenus par cette méthode et ceux fournis par les tests pharmacologiques permettent de remarquer des analogies et de dégager des conclusions d'ordre général.

Pour comparer l'activité de divers fongicides industriels nous avions proposé (Moreau, 1959) une technique simple. Le Champignon-test utilisé était alors une souche de *Fusarium oxysporum* Schl. ; les résultats obtenus ont été publiés (Moreau, 1960).

L'intérêt de la méthode a déjà été souligné : faible consommation et non-autoclavage des produits, rapidité et reproductibilité des résultats permettant de comparer entre elles non seulement les activités de fongicides variés mais aussi celles de leurs diverses formulations. Ces avantages nous ont incités à adapter ce test à l'étude systématique de corps purs de formules chimiques proches.

L'Institut de Pharmacologie de la Faculté de Médecine de Paris poursuit l'étude des dérivés organo-phosphorés (cf. Cheymol, Chabrier *et al.*, 1960, 1961). Les liens entre la structure chimique et les propriétés pharmacodynamiques y sont recherchés sur des tissus animaux. Afin de collecter le maximum

d'informations possible sur l'activité biologique de chacun de ces corps, il a paru intéressant d'étendre les investigations au domaine végétal et d'envisager le comportement des Champignons à leur égard (1).

Choix des Champignons.

Notre choix a été guidé par les exigences suivantes :

1°) ouvrir l'éventail des réactions possibles tout en limitant pour la commodité le nombre des espèces examinées : donc s'adresser à des champignons appartenant à des ordres systématiques différents ;

2°) reproduire, et cela plusieurs années de suite, les mêmes résultats dans les mêmes conditions ; donc retenir des souches aisément isolables, ayant fait preuve d'une grande stabilité en culture au laboratoire ; pour cette raison nous n'avons pu conserver le *Fusarium oxysporum* précédemment utilisé, les caractères morphologiques des souches se dégradant rapidement en culture ;

3°) effectuer, lors d'un même essai, les contrôles simultanément et facilement sur les colonies ensemencées : donc avoir des Champignons dont la croissance mycélienne soit comparable et assez rapide, ne donnant pas facilement de colonies secondaires ; les *Penicillium* et *Aspergillus*, par leur croissance mycélienne réduite et la multiplication rapide des colonies secondaires, sont exclus ; il en est de même des espèces dont la croissance aérienne vigoureusé rend difficile la lecture des résultats et dont la prolificité est une menace permanente de contamination des locaux : tel est le cas des *Rhizopus* et autres Mucorales, *Trichoderma*, *Neurospora* ;

4°) obtenir des résultats pouvant orienter vers des applications pratiques ultérieures : des Champignons parasites secondaires polyphages ont l'avantage d'avoir un système de défense riche et varié, leur permettant de survivre à certaines actions toxiques ;

5°) prévoir des comportements physiologiques caractéristiques pouvant intéresser d'autres chercheurs : utiliser des Champignons sur lesquels certaines données physiologiques et chimiques sont déjà connues, la synthèse des pigments par exemple.

(1) Que M. le Professeur J. Cheymol et M. P. Chabrier soient ici remerciés de nous avoir offert la possibilité d'apporter notre contribution à ce travail d'équipe.

Champignons-tests utilisés.

Après de nombreux essais, nous avons retenu les espèces suivantes : *Pythium splendens, Thielaviopsis paradoxa, Fusarium roseum* f. *culmorum, Rhizoctonia solani.*

Le *Pythium splendens* Braun est un des *Pythium* parasites, agents de dépérissements, très proches des *Phytophthora* (cf. Moreau, 1958). La souche utilisée provient de racines de jeunes Palmiers à huile atteints de « blast ». Le mycélium a une structure siphonée. Il appartient au groupe des Oomycètes dont la paroi est dépourvue de chitine (pour Gäumann (1952) les observations selon lesquelles les *Pythium* pourraient synthétiser la chitine sont erronées) mais de nature cellulosique comme celle des plantes supérieures (von Wettstein, 1921).

Les trois autres Champignons possèdent un mycélium cloisonné dont la paroi est riche en chitine, chimiquement identique à celle des Arthropodes (Schmidt, 1936 ; Ulrich, 1943 ; Frey, 1950).

Le *Thielaviopsis paradoxa* (de Seynes) von Höhnel, Hyphale Dématiée, forme imparfaite d'un Ascomycète du genre *Ceratocystis*, est responsable de pourriture des ananas et des régimes de bananes. La souche utilisée parasitait un ananas de Côte d'Ivoire. Les activités enzymatiques des *Ceratocystis* sont bien connues en raison des dégâts que causent certaines espèces aux bois (« bois bleu »). Les cultures sont fuligineuses.

Le *Fusarium roseum* (Lk.) Snyder et Hansen f. *culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. appartient au cycle d'un Ascomycète de l'ordre des Hypocréales. Nous l'avons fréquemment isolé d'œillets malades. Ce Champignon élabore un pigment rouge qui jaunit en milieu acide et qu'on a pu fractionner en une poudre microcristalline jaune d'or, l'aurofusarine peu soluble et une poudre d'un rouge brillant la rubrofusarine qui est une méthyl-dihydroxy-méthoxyxanthone (Pastac, 1942).

Le *Rhizoctonia solani* Kühn est un Champignon à mycélium stérile ne possédant que des sclérotes peu différenciés ; on sait qu'il s'agit de la forme stérile d'un Basidiomycète, le *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers ; décrit d'abord sur pomme de terre, ce Champignon est connu sur des hôtes variés ; c'est en particulier un actif agent de « fonte de semis » (la souche que nous utilisons provient d'œillets dépérissants).

Exposé de la méthode.

Des boîtes de Pétri de 10 cm de diamètre reçoivent chacune 20 ml d'un milieu de culture (Maltea Moser : 1 % ; gélose 2 % ; pH = 6,5).

A leur sortie de l'autoclave nous plaçons les boîtes, à l'envers, dans une étuve à 25°, maintenue sèche. Dans ces conditions, l'élimination de l'eau de condensation est rapide.

Les boîtes sont ensemencées : en leur centre est déposé un cube d'environ 4 mm de côté découpé dans des cultures en tubes (issues d'un même tube-mère) âgées de 3 jours, donc composées uniquement du mycélium jeune des divers Champignons-tests.

Pour éviter le vieillissement anormal des souches par repiquages trop fréquents, un nombre de tubes-mères issus de chaque souche est préparé d'avance puis conservé à basse température (12°). Un tube-mère est prélevé chaque semaine et sert à l'ensemencement des tubes dont le mycélium âgé de 3 jours sera repiqué en boîte. Ainsi, tous les Champignons qui serviront à l'examen d'un groupe de corps chimiques ont subi le même nombre de repiquages et bien que l'expérience soit étalée sur plusieurs semaines, les résultats sont comparables.

Nous devons signaler que si les 3 autres souches se conservent longtemps à 12°, le *Pythium* ne supporte pas cette température plus de 2 mois, nous conservons désormais les tubes-mères de cette souche à température ambiante.

Les boîtes ainsi ensemencées sont placées, couvercle en-dessus, à l'étuve à 25°, à 85 % d'humidité relative, et y incubent 24 h. Le rayon des colonies : r_T est alors mesuré.

Nous déposons aux 3 sommets d'un triangle équilatéral qui serait inscrit dans un cercle de 3 cm de rayon ayant pour centre celui de la boîte, une goutte de 1/20 ml de la substance à tester à la concentration désirée. Pour chaque substance nous réalisons ainsi par pesées de précision une série de solutions aqueuses ou alcooliques aux concentrations de 100 %, 75 %, 50 %, 20 %, 10 %, 5 %, 2 %... 0,005 %.

Les boîtes sont remises à l'étuve à 25° et 48 heures plus tard, soit 3 jours après le semis, nous mesurons pour chaque colonie les rayons R, distance du centre de la boîte aux 3 points de croissance maximale et r, distance du centre de la boîte aux 3 points de croissance minimale. R_T est le rayon des colonies-témoins n'ayant reçu aucune goutte fongicide.

La comparaison de R, r aux diverses concentrations avec R_T et r_T permet de définir pour chaque substance et pour chaque Champignon-test :

1°) la concentration limite d'activité (pour laquelle $R=r=R_T$)

2°) la dose léthale (pour laquelle $R=r=r_T$).

En outre diverses observations découlent de l'examen comparatif des résultats.

Influence du semis.

Au cours d'essais préliminaires nous avons constaté que la nature, l'âge et la valeur quantitative du semis avaient souvent une influence sur la vitesse de croissance du mycélium au cours des premiers jours du développement.

C'est ainsi que les rayons suivants des cultures (en mm) ont été notés respectivement après 28 et 48 heures de séjour en étuve à 25° en tubes sur milieu de Maltea 1 % gélosé.

	28 h.	48 h.
Thielaviopsis paradoxa		
a. Semis de mycélium jeune	10	21
b. Vieilles spores	8	20
Fusarium culmorum		
a. Semis de mycélium jeune	7	15
b. Spores de sporodochies	4	11
Rhizoctonia solani		
a. Semis de mycélium jeune	16	34
b. Sclérotes	7	19

Dans tous les cas, les semis à partir de mycélium jeune se développent plus rapidement que les semis effectués à partir d'organes de fructification adultes.

La place du prélèvement à la surface du tube a même une influence particulièrement importante sur le développement ultérieur du mycélium du *Rhizoctonia solani*.

Influence du solvant et diffusion de la substance.

Comme liquide vecteur nous avons utilisé, selon les cas, l'eau ou l'alcool éthylique à 95° et nous avons vérifié que, dans les conditions d'expérience, ces deux corps sont sans influence sur la croissance des Champignons-tests. Il est bien évident

que pour tout autre solvant il conviendrait de définir préalablement son action répressive possible sur la croissance des Champignons.

On note une difficulté de certaines substances à diffuser dans le milieu gélosé aux concentrations élevées ; les résultats aberrants obtenus en témoignent mais la diffusion se régularise alors pour les concentrations comprises entre 50 et 20 %.

Lorsqu'on dépose sur le milieu gélosé lès gouttes de solutions fongicides il convient de maintenir la pipette perpendiculaire à la surface du milieu de culture, car une légère inclinaison peut faire varier le volume de liquide déposé du simple au double.

Enfin, selon la concentration et la substance, l'étalement des gouttes à la surface du milieu est différente. En général elles occupent, lorsqu'on les dépose, une surface circulaire de 10 à 12 mm de diamètre. Si de l'eau de condensation se trouve encore à proximité de la goutte, l'étalement devient alors très fantaisiste et fausse les résultats.

Interprétation des résultats.

Chacun des Champignons-tests a un comportement différent à l'égard des substances toxiques en présence desquelles il se trouve. Le chimisme propre de chacun, la nature des parois mycéliennes, la vitesse de croissance et le type de ramification entre autres peuvent aider à l'expliquer.

C'est ainsi que chez le *Pythium splendens* le grand rayon R est rarement affecté, il est souvent égal à R_T même en présence de fortes concentrations alors que r demeure égal à r_T ou lui est inférieur, de sorte que la colonie dessine une étoile à 3 branches (fig. 1, b). En présence de concentrations moins toxiques, r devient vite égal à R_T. Il n'existe qu'une faible zone de concentrations pour lesquelles r est compris entre r_T et R_T ; dans ces cas limites la goutte fongicide est visible mais les filaments du Champignon l'entourent et l'enserrent à la façon des écailles d'un jeune bourgeon en coupe (fig. 1, d) ; ce sont les ramifications latérales des hyphes ayant poussé entre les gouttes qui recouvrent ces dernières.

Le bord du cercle que constitue la colonie du *Thielaviopsis paradoxa* marque une inflexion d'autant plus grande au niveau des gouttes fongicides que la concentration est élevée (fig. 2, b et c). R est généralement inférieur à R_T aux fortes concentra-

tions tandis que $r=r_T$. Puis à mesure que les solutions sont plus diluées R se rapproche de R_T et devient égal à lui tandis que r demeure assez longtemps compris entre r_T et R_T.

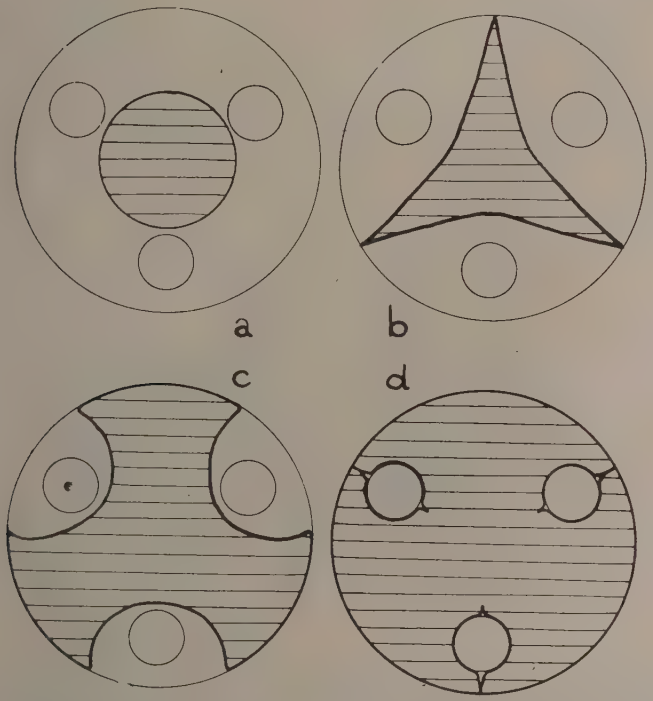


Fig. 1. — Inhibition de la croissance du *Pythium splendens*.

a. Colonie de rayon r_T, au moment où l'on dépose les gouttes fongicides. b à d. Divers aspects de colonies en présence d'une solution provoquant une répression forte (b), moyenne (c), faible (d).

(En b : il y a eu lyse du mycélium, r est devenu inférieur à r_T ; R est déjà égal à R_T ; en c : la boîte est progressivement envahie, un mouvement d'encerclement des gouttes s'amorce ; en d : la boîte est presque totalement occupée, seul l'emplacement des gouttes demeure exempt de mycélium).

Le *Fusarium roseum* est, des quatre Champignons-tests, celui dont la croissance est la plus lente. A la fin de l'expérience R_T est encore inférieur à 30 mm, c'est-à-dire que le bord de la colonie n'atteint même pas le centre des gouttes. C'est sans

doute pourquoi la différence entre R et r est assez faible ; on note souvent des colonies presque circulaires mais d'un rayon inférieur à celui des colonies témoins (fig. 3).

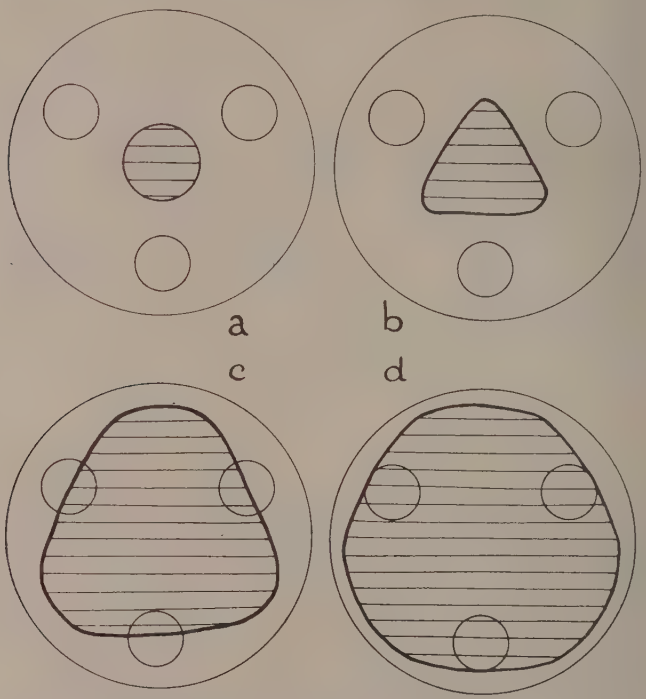


Fig. 2. — Inhibition de la croissance du *Thielaviopsis paradoxa* (les figures obtenues avec le *Rhizoctonia solani* sont d'un type voisin).

a. Colonie de rayon r_T, au moment où l'on dépose les gouttes fongicides. b à d. Divers aspects de colonies en présence d'une solution provoquant une répression forte (b), moyenne (c), faible (d).

(En b : la colonie prend une forme sensiblement triangulaire, le petit rayon est plus grand que r_T, le grand rayon atteint 3 cm ; en c : le petit rayon a atteint la goutte fongicide, c'est là souvent un point critique pour la répression de la croissance, les sommets du triangle de la fig. b se sont estompés ; en d : les gouttes sont franchies par le mycélium mais un léger retard dans la croissance à leur niveau laisse encore deviner leur place).

Le *Rhizoctonia solani* nous a longtemps paru irrégulier dans ses résultats jusqu'à ce que nous matérialisions la grande importance de la valeur du semis en ce qui le concerne. Il n'en

reste pas moins vrai qu'il s'agit d'un Champignon très sensible parfois même à des traces de corps toxiques et dont le métabolisme dévie très facilement.

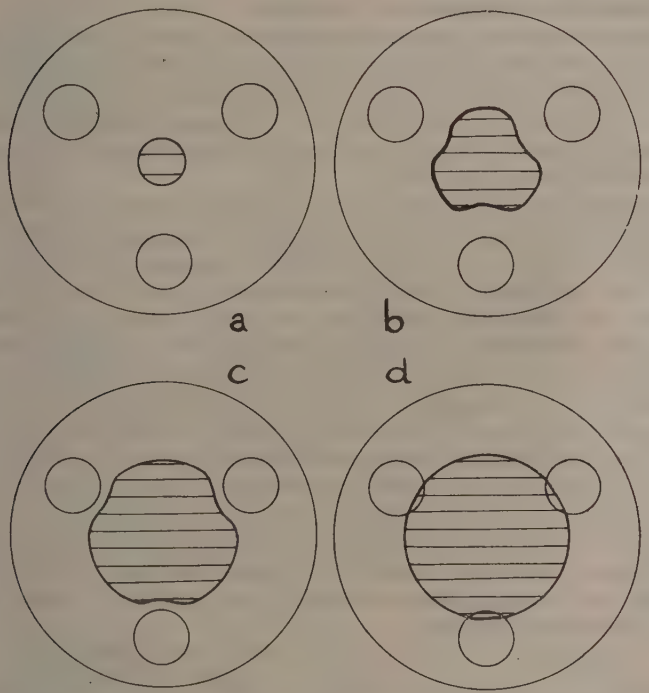


Fig. 3. — Inhibition de la croissance du *Fusarium roseum* f. *culmorum*. a. Colonie de rayon r_T, au moment où l'on dépose les gouttes fongicides. b à d. Divers aspects de colonies en présence d'une solution provoquant une répression forte (b), moyenne (c), faible (d).

(En b : la colonie est subtriangulaire ; en c : la colonie tend à devenir circulaire, une légère inflexion étant seule marquée au niveau des gouttes ; en d : la colonie est presque totalement circulaire, mais son rayon est inférieur à celui des colonies témoins).

Outre les altérations de la croissance on note, selon les cas, des inhibitions ou des modifications de pigment, surtout chez le *Fusarium roseum*, accessoirement chez le *Thielaviopsis paradoxa* ; on peut également constater l'apparition de substances volatiles à odeur de pêche abricotée chez le *Thielaviopsis* ; enfin l'examen microscopique révèle souvent des modifications diverses tant dans le mycélium que dans la for-

mation des organes de fructification. L'étude de ces types de réactions et de leur déterminisme mériteront des recherches ultérieures.

Comparaison des pouvoirs fongicides.

Nous choisirons quelques exemples parmi les dérivés de l'acide orthophosphorique et de l'acide pyrophosphorique que nous avons expérimentés en solutions aqueuses.

Le tableau I rend compte de la concentration qui pour chaque substance et chaque Champignon représente la limite d'activité (pour laquelle $R = r = R_T$).

Lorsqu'on désire comparer les pouvoirs fongicides de deux de ces substances, il suffit pour chaque Champignon d'établir le rapport entre les deux concentrations indiquées.

Dans le tableau II nous avons classé pour chaque Champignon les substances expérimentées dans l'ordre de leur efficacité décroissante, le rapport des pouvoirs fongicides étant indiqué dans la colonne voisine. On peut ainsi aisément conclure que, par exemple : à l'égard du *Thielaviopsis paradoxa* le corps 4037, qui a la même efficacité que 4033, est 2 fois moins fongicide que 4036 et 10 fois plus fongicide que 1736.

L'étalement des activités fongicides est variable selon les Champignons. On constate en effet qu'il est faible pour le *Pythium splendens*, le premier de liste étant 10 fois supérieur au dernier, alors que pour le *Fusarium culmorum* il l'est 200 fois, pour le *Rhizoctonia solani* 375 fois et pour le *Thielaviopsis paradoxa* 1000 fois.

Cependant une certaine analogie dans le classement des efficacités des divers corps pour l'ensemble des Champignons autorise à tirer quelques conclusions quant aux liens entre la structure chimique et l'activité fongicide.

Activité fongicide et structure chimique.

1°) Les dérivés de l'acide pyrophosphorique sont, dans l'ensemble, mieux classés que ceux de l'acide orthophosphorique.

2°) Les composés possédant deux radicaux éthyles sont plus efficaces que ceux ayant deux radicaux méthyles.

Ainsi :

1469 > 1458
1740 > 1717
1741 > 1718
4037 > 4032
4036 > 4033

TABLEAU I.

Concentration limite d'activité de quelques dérivés de l'acide orthophosphorique et de l'acide pyrophosphorique.

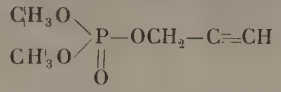
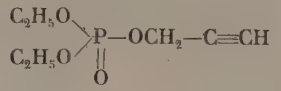
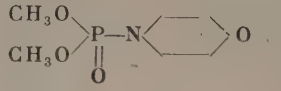
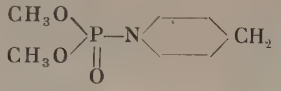
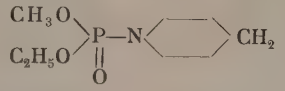
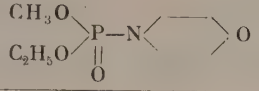
N° conventionnel et formule de constitution		*Pythium splendens*	*Thielaviopsis paradoxa*	*Fusarium culmorum*	*Rhizoctonia solani*
1458		20 %	10 %	75 %	20 %
1469		20 %	5 %	20 %	10 %
1717		100 %	100 %	100 %	75 %
1718		20 %	10 %	2 %	5 %
1736		20 %	2 %	5 %	2 %
1737		100 %	20 %	50 %	10 %

TABLEAU I (suite).

Concentration limite d'activité de quelques dérivés de l'acide ortho phosphorique et de l'acide pyrophosphorique.

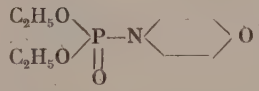
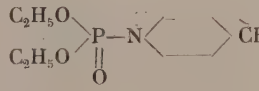
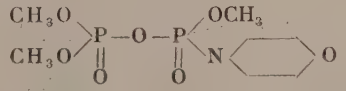
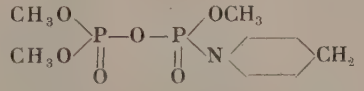
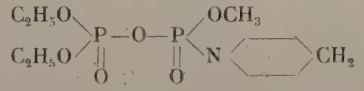
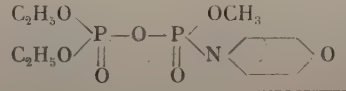
N° conventionnel et formule de constitution		*Pythium splendens*	*Thielaviopsis paradoxa*	*Fusarium culmorum*	*Rhizoctonia solani*
1740		100 %	20 %	75 %	50 %
1741		10 %	2 %	10 %	2 %
4032		20 %	0,5 %	1 %	1 %
4033		10 %	0,2 %	0,5 %	0,2 %
4036		10 %	0,1 %	2 %	0,2 %
4037		10 %	0,2 %	10 %	0,2 %

TABLEAU II.

Classification par ordre d'efficacité des substances expérimentées et rapport des pouvoirs fongicides.

Pythium splendens		*Thielaviopsis paradoxa*		*Fusarium culmorum*		*Rhizoctonia solani*	
1741		4036		4033		4033	
4033			× 2		× 2	4036	
4036		4033		4032		4037	
4037		4037			× 2		× 5
	× 2		× 2,5	1718		4032	
1458		4032		4036			× 2
1469			× 4		× 2,5	1736	
1718		1736		1736		1741	
1736		1741			× 2		× 2,5
4032			× 2,5	1741		1718	
	× 5	1469		4037			× 2
1717			× 2		× 2	1469	
1737		1458		1469		1737	
1740		1718			× 2,5		× 2
			× 2	1737		1458	
		1737			× 1,5		× 2,5
		1740		1458		1740	
			× 5	1740			× 1,5
		1717			× 1,33	1717	
				1717			

(Exception pour le *Fusarium* : 1718 et 4032 sont respectivement plus fongicides que 1741 et 4037).

3°) Les dérivés présentant à la fois un radical méthyle et un radical éthyle sont plus efficaces que les dérivés diéthyles ou diméthyles correspondants.

Par exemple :

1737 > 1740 et 1717

1736 > 1741 et 1718

(Une exception pour le *Pythium* : 1736).

4°) Les composés à radical pipéridine ont une activité fongicide supérieure à celle des composés à radical morpholine correspondant.

1718 > 1717

1736 > 1737

1741 > 1740

4033 > 4032

4036 > 4037

5°) Par leur efficacité les composés à radical propargyle s'inscrivent entre ceux à radical pipéridine et ceux à radical morpholine.

$$1718 > 1458 > 1717$$
$$1741 > 1469 > 1740$$

Une remarquable analogie s'observe entre ces conclusions et celles des essais concernant l'activité anticholinestérasique et diverses actions pharmacodynamiques de ces mêmes dérivés telles que les rapportent Cheymol, Chabrier et leurs collaborateurs (1960, 1961) :

— la substitution des radicaux méthyles par les radicaux éthyles conduit à une exaltation de pouvoir anticholinestérasique en même temps qu'à une augmentation de la toxicité ;

— le caractère dissymétrique de la molécule (dérivés présentant à la fois un radical méthyle et un radical éthyle) est une circonstance favorable à la manifestation de l'activité anticholinestérasique ;

— les dérivés à radical pipéridine se classent avant les dérivés à radical morpholine pour leur activité.

Conclusions.

Les exemples donnés ci-dessus, confirmés d'ailleurs par des études en cours, montrent l'intérêt de ce test pour l'étude systématique de substances à structure chimique proche. Comme il avait été constaté lors de l'étude pharmacologique des dérivés organo-phosphorés, des composés de nature chimique apparemment très voisine, peuvent jouir de propriétés très différentes.

Bibliographie.

Cheymol (J.), Chabrier (P.), Murad (J.) et Selim (M.). — Contribution à l'étude chimique et pharmacologique des dérivés de l'acide orthophosphorique. III. Constitution chimique et activité anticholinestérasique. *Thérapie*, t. XV, p. 237-241, 1960.

Cheymol (J.), Chabrier (P.) et Murad (J.). — IV. Étude pharmacologique comparée de deux triesters homologues : phosphate de diméthylpropargyl et phosphate de diéthylpropargyl. *Thérapie*, t. XV, p. 242-246, 1960.

Cheymol (J.), Chabrier (P.), Beauvallet (M.), Selim (M.) et Thang Thuong (N.). — V. Constitution chimique et activité anticholinestérasique de quelques phosphoramides. *Thérapie*, t. XVI, p. 28-33, 1961.

GÄUMANN (E.). — Les voies de l'évolution chez les Champignons. Contribution à une discussion. *Colloque int. du C.N.R.S. sur l'évolution des plantes*, 7 p., Paris 1952.

MOREAU (C. et M.). — Le « blast » des jeunes Palmiers à huile. Observations sur le système radiculaire de l'hôte et sur ses parasites. *Rev. de Mycol.*, t. XXIII, fasc. 2, p. 201-232, 1958.

MOREAU (C. et M.). — Technique simple de comparaison du pouvoir fongicide de diverses substances : mesure de l'action répressive sur la phase linéaire de croissance. *Rev. de Mycol.*, t. XXIV, fasc. 1, p. 59-64, 1959.

MOREAU (C. et M.). — Inhibition de la croissance du *Fusarium oxysporum* Schl. par divers fongicides organiques. *Rev. de Mycol.*, t. XXV, fasc. 5, p. 306-309, 1960.

PASTAC (I. A.). — Les matières colorantes des Champignons. *Rev. de Mycol.*, Mém. h. s. n° 2, 88 p., 1942.

SCHMIDT (M.). — Makrochemische Untersuchungen über das Vorkommen von Chitin bei Mikroorganismen. *Arch. Mikrobiol.*, t. VII, p. 241-260, 1936.

ULRICH (R.). — Les constituants de la membrane chez les Champignons. *Rev. de Mycol.*, Mém. h. s. n° 3, 44 p., 1943.

VON WETTSTEIN (F.). — Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als systematisch-phylogenetisches Merkmal in Pflanzenreich. *Sitzber, Akad. Wiss. Wien, Math. Naturw. Kl.*, Sect. I, t. CXXX, p. 3-20, 1921.

(*Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire naturelle, Paris*).

Pour tous les **utilisateurs** de

L'ECCETRON TAXINOMIQUE

appareil photo-électronique
pour la détermination automatique des espèces

la **MÉMOIRE** des **Genres** et subdivisions de genre
des AGARICALES du globe

par Marcel LOCQUIN

vient de paraître ; elle permet la détermination automatique d'un genre ou d'une de ses subdivisions **en quelques secondes**

LES PROCÉDÉS Marcel LOCQUIN
20, avenue Rapp, PARIS (7e) FRANCE

Séance du 3 juillet 1961.

(Présidence de M. Yves André, président).

Décès. — Le président a le regret de faire part de la disparition de notre confrère M. Albert Canitrot, receveur des P.T.T., membre de notre société depuis 1952, qui est décédé à Bohain-en-Vermandois (Aisne).

Admissions. — Mme Chancel, pharmacienne, 142, rue Pierre-Julien, Montélimar (Drôme), présentée par MM. André et Malmy.

M. Charbonnel J., pharmacien, Egreville (Seine-et-Marne), présenté par MM. André et Malmy.

M. Conan Pierre, visiteur médical, 10 rue des Marronniers, Stains (Seine), présenté par MM. Coupechoux et Ostoya.

M. Delahaye Jean, expert comptable, 12 rue L. Trarieux, Perpignan (Pyrénées-Orientales), présenté par MM. Bertram et Ostoya.

M. Largeaud, pharmacien, Oradour-sur-Vayres (Haute-Vienne), présenté par MM. André et Malmy.

M. Nicolas Yves, docteur en pharmacie, place C.-Bellet, Goderville (Seine-Maritime), présenté par MM. Malmy et Coupechoux.

M. Richet Paul, chimiste, 13 rue Louis-Loucheur, Paris 17e, présenté par MM. Bertram et Malmy.

M. Terradas David, avocat, Calle Corcega 331, Barcelone (Espagne), présenté par MM. Bertram et Malmy.

M. Ubertin Raoul, garde-champêtre, Jussy par Champs (Yonne), présenté par MM. Landier et Ostoya.

Correspondance. — Le secrétaire général signale la réception d'une note intitulée « Hétérobasidiomycètes saprophytes et Homobasidiomycètes résupinés », par Jacques Boidin et Marie des Pomeys.

Communications. — Mme Coulmier, d'Epernay, présente un Gastéromycète assez rare dans la région parisienne, *Pisolithus arenarius* (= *Polysaccum arenarium*), trouvé dans la Montagne de Reims.

M. Rapilly annonce que notre confrère M. P. Bultez, à Amiens, a créé dans cette ville une section mycologique de la Société Linnéenne du Nord de la France. L'adhésion de cette section à notre société est envisagée. Nos confrères d'Amiens prévoient l'organisation d'une exposition en octobre.

Le Secrétaire général annonce que le Salon du Champignon devant avoir lieu du 14 au 22 octobre, le bureau de la Société a fixé au 8 octobre la date de notre exposition.

Séance du 7 août 1961.

(Présidence de M. Yves André, président).

Décès. — Le président a le grand regret de faire part de la mort de notre confrère le docteur Cuq, de Nice, un de nos plus anciens membres puisqu'il avait adhéré à la Société en 1914.

Admissions. — M. Bouquin Louis, professeur de collège d'enseignement général, 26, rue Rouget-de-Lisle, Lons-le-Saunier (Jura), présenté par MM. Ostoya et Bertram.

M. Solvay Pierre Ernest, ingénieur, 103 avenue Notre-Dame-au-Bois, Tervuren (Belgique), présenté par MM. Ostoya et Bertram.

M. Terradas David, avocat, Calle Corcega 331, Barcelone (Espagne), présenté par MM. André et Malmy.

Correspondance. — M. Lugagne, à Néoux (Creuse), envoie une note sur la microflore fongique de la Creuse et principalement de la région d'Aubusson.

Séance du 6 septembre 1961.

(Présidence de M. Yves André, président).

Cette séance, tenue au Théâtre municipal de Montluçon le mercredi 6 septembre 1961 au cours du Congrès annuel de la Société, remplaçait la séance mensuelle qui se tient d'ordinaire à Paris le premier lundi du mois.

Ouvrant la séance à 17 h. 30, le président adresse d'abord, au nom de la Société, ses remerciements à la municipalité de Montluçon pour son accueil et pour toutes les facilités qui nous ont été offertes.

Admissions. — M. Berreta, libraire, Remiremont (Vosges), présenté par MM. Barbas et Petit.

M. Boutarin, pharmacien, 3 rue Fernand-David, Annemasse (Haute-Savoie), présenté par MM. André et Dujarric de la Rivière.

M^lle^ Bujadoux Angèle Sylvia, professeur, 32 rue de la Rotonde, Montluçon (Allier), présenté par M. Bertaux et le Docteur Cutzach.

M. Marchand, professeur, 9, quai Nobel, Perpignan (Pyrénées-Orientales), présenté par MM. Bertaux et Jacquetant.

M. Rousseau Georges, docteur en pharmacie, place de l'Hôtel-de-Ville, Laon (Aisne), présenté par MM. André et Dujarric de la Rivière.

Communications. — M^me^ M. Le Gal présente une note sur *Ciboria strobilina*, dans laquelle elle établit le caractère facultatif de la présence d'un sclérote à la base des apothécies dans cette espèce : le sclérote existe sur des échantillons provenant de Suisse, mais ne se retrouve pas sur les individus récoltés dans le Jura par M. Piane.

M. V. Piane fait part de quelques observations sur l'écologie de *Ciboria strobilina* qu'il a récolté à diverses reprises dans le Jura.

Achevé d'imprimer le 20 décembre 1961.

Printed in France. *Le Directeur-Gérant* : Maurice DECLUME.

Imprimerie M. DECLUME, Lons-le-Saunier — 1024-61-1650
Décembre 1961 « Dépôt légal 4e trimestre 1961 — N° 5250 ».

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES BOLETS DU SOUS-GENRE *KROMBHOLZIA*,

par André Bertaux.

Ce travail a pour but la recherche d'une séparation réelle entre les espèces du sous-genre *Krombholzia* pour lesquelles subsiste une certaine confusion. J'ai fait abstraction des espèces *B. aurantiacus* et *duriusculus*, non parce que tout a été dit sur elles, mais parce qu'elles se laissent assez bien déterminer. Mon attention s'est donc portée sur le 2e groupe des *Krombholzia*, tel qu'il est compris dans la flore de Kühner et Romagnesi.

Il s'agit de *B. carpini* Schulzer, *B. leucophaeus* ss Gilbert et Leclair *pro parte*, *B. duriusculus* Kalchbr. et Schulzer, auxquels s'ajoute *B. oxydabilis* Singer, véritable sosie de *B. leucophaeus*, mais qui s'en sépare par une réaction chimique bien différente.

La tentative de séparation que je présente est le résultat de quatre années d'essais en des lieux différents : Région Parisienne, Ouest, Est, Sud-Est de la France. Chacun est à même de renouveler sur le terrain les expériences que je propose.

Tout ce qui a été dit sur les espèces de ce sous-genre a été le résultat d'observations souvent précises et pertinentes. Le malheur est que l'on a constamment pris les espèces l'une pour l'autre et qu'il en est résulté une grande confusion littéraire, en sorte que nul ne peut prouver que textes ou iconographies existants se rapportent bien à l'espèce dont chacun s'occupe. Cette confusion a lieu parce que macroscopie ou microscopie n'ont pu établir tout à fait les limites de chaque espèce.

Il faut donc, puisque la science proprement dite n'a pu résoudre ce problème, essayer tous les moyens qui sont à notre disposition. La réaction chimique bien faite et toujours dans les mêmes conditions peut lever un voile.

D'autres causes d'erreur sont à éviter, par exemple celle de prendre à la lettre des caractères qui ne sont pas constants ou qui peuvent être communs à deux ou plusieurs espèces. Nous allons examiner ces caractères un par un.

Couleur du chapeau. — C'est un précieux argument seulement dans le cas de chapeaux foncés. Mais attention aux chapeaux clairs car n'oublions pas que dans ce sous-genre nombre d'espèces, nous le verrons plus loin, sont affectées d'albinisme. Il s'ensuit que la couleur des chapeaux peut varier de la teinte la plus foncée jusqu'au blanc en passant par toutes les teintes intermédiaires.

Changement de couleur de la chair. — C'est ce caractère important qui a permis d'isoler *B. leucophaeus* par l'immuabilité de sa chair. Mais c'est aussi ce caractère qui a permis à *B. oxydabilis* Singer de passer pour un parfait *leucophaeus*, à tel point que je l'ai longtemps pris pour la forme typique de ce dernier, ce que beaucoup d'entre nous continuent de faire.

Le temps nécessaire pour le virement de la chair en une autre couleur n'est pas constant. Il est facile de distinguer un changement qui se fait en quelques minutes d'un autre qui demande plusieurs heures. Mais, pour des

raisons que je n'ai pu déterminer, telle espèce à chair changeante peut présenter un retard ou une accélération dans son changement. Telles autres *B. leucophaeus* ou *oxydabilis*, peuvent précipiter ou accentuer leur tardif et très léger rosissement sans que pour cela ils perdent leur qualitatif d'« immuables ».

Enfin il faut compter aussi sur l'appréciation de chacun pour décider de la valeur d'un changement de couleur : faible, fort, rapide ou lent, etc...

B. leucophaeus est peut-être à ce point de vue le plus accommodant des *Krombholzia*, caractère qu'il paraît partager avec *B. oxydabilis*. Certes, il abonde sous les arbres à « bois blanc », mais il se récolte sous les hêtres (Plombières), les chênes (Sénart), les conifères (Vosges), les charmes (Fontainebleau).

B. duriusculus, que je n'ai récolté que sous *Populus alba*, paraît avoir, jusqu'à preuve du contraire, un habitat constant.

Tubes. — Caractères sujets à caution : 1° leur longueur ; 2° leur couleur. Ces caractères sont insaisissables dans leurs changements. D'appréciation trop subtile, ils n'offrent rien de positif sur des adultes un peu passés.

Le vert émeraude, le bleu ou le mélange de ces teintes sur la base du stipe. — Caractère fréquent mais sans aucune valeur spécifique, car il s'applique à trop d'espèces.

Spores. — Leurs dimensions et, plus encore, le rapport longueur épaisseur, c'est-à-dire la forme, sont variables dans des proportions énormes. L'allongement des spores, caractéristique propre à tous les *Krombholzia*, permet de les séparer facilement des autres Bolets. Elle ne permet pas, hélas, de les départager entre eux.

Habitat. — C'est souvent une source d'erreurs. La plus fréquente est la dénomination de *B. carpini* assignée à tout *Krombholzia* récolté sous les charmes. Autrefois, je devrais dire récemment, l'habitat de *B. scaber*, qu'on nomme aujourd'hui *B. carpini*, était bien précisé ; *scaber* : sous bouleaux. Aujourd'hui, *carpini* : sous les charmes. Mais *B. scaber* = *carpini* s'accommode fort bien des deux habitats et même du couvert de certains peupliers. On peut se demander pourquoi la dénomination en a été modifiée.

Tous les caractères précités sont donc inconstants et aucun d'eux ne permet de distinguer les espèces.

Réaction au sulfate de fer. — Le seul caractère constant que je connaisse est la réaction au sulfate de fer comme je la préconise. Si cette particularité ne s'applique pas à tout le groupe, elle apporte du moins un peu de lumière et elle nous permet de séparer *B. leucophaeus*, espèce si longtemps contestée, confondue, mais surtout mal connue, et pourtant la plus commune du sous-genre !

Il faut donc que les mycologues s'appliquent à séparer les espèces avant d'en entreprendre une étude trop poussée ; autrement on continuera à développer une littérature qui n'apportera pas grand chose à la reconnaissance des champignons sur le terrain.

Conditions essentielles d'une bonne réaction chimique par le sulfate ferreux SO_4Fe sur le sous-genre Krombholzia :

1° L'eau étant un agent d'oxydation pour tous les *Krombholzia, B. leucophaeus* y compris (il suffit pour s'en rendre compte d'en jeter un morceau dans l'eau), on ne se servira donc pas d'une solution aqueuse, même concentrée. D'ailleurs, une solution de concentration différente serait susceptible de modifier la couleur ou la durée de la réaction. Il est donc nécessaire d'utiliser un cristal de sulfate ferreux et non une solution aqueuse.

2° La réaction ne doit pas se faire sur la chair du chapeau souvent spongieuse et molle. Elle se fera sur le stipe intérieurement ou extérieurement, mais au tiers supérieur, par un frottis assez énergique avec un cristal de

sulfate de fer. Les réactions ainsi obtenues seront toujours identiques pour chaque espèce. La couleur obtenue est constante durant 24 heures.

3° Temps nécessaire à la réaction : bien des insuccès sont dus au manque de patience des opérants qui jettent leur matériel avant que la réaction soit visible car elle n'est pas immédiate. Le délai nécessaire pour la manifestation de la réaction est de dix minutes. Cinq minutes suffisent pour *B. leucophaeus*.

N.B. — R. Singer donne pour *B. duriusculus* : réaction bleue à SO_4Fe. Pour *B. oxydabilis*, il dit : bleu à bleu vert, et vert pour ce même champignon à la base du pied dans les parties jaunes. L'auteur ne donne pas de précisions sur la teneur de son réactif, ni sur le temps de la réaction, ni sur la partie contactée, ni sur l'intensité des couleurs. Le mieux est de faire la réaction soi-même et de la noter en valeur absolue.

Krombholzia nivea = Boletus holopus et l'albinisme dans le sous-genre Krombholzia.

Les contradictions et les hypothèses que l'on trouve dans la littérature consacrée à *Boletus niveus* prouvent que l'on est peu fixé sur les caractéristiques de ce champignon, sinon qu'il est blanc. Est-ce une bonne espèce ? Ou n'est-ce pas plutôt, comme c'est devenu pour moi une certitude, un nom collectif donné à tout champignon blanc du sous-genre *Krombholzia* ? Voyons ce qu'en disent quelques mycologues réputés :

« La plupart des auteurs rattachent *niveus* à *scaber* », disent Konrad et Maublanc qui ajoutent : « ...Or *Boletus niveus* n'a pas en réalité le chapeau glabre. On remarque une légère pubescence lorsqu'il est jeune et l'examen microscopique montre un revêtement constitué par des cellules fibrilleuses et non globuleuses ».

E. J. Gilbert décrit ainsi *Krombholzia nivea* : « Tout blanc, chair ne noircissant pas, teinté de vert à la base du pied par temps humide. On le tient habituellement pour une variété de *scaber*, mais cela me paraît incertain, et je le considère plutôt comme une espèce, à cause de la fermeté de sa chair ». Cette description peut correspondre exactement à la forme blanche de *B. oxydabilis* (*Atlas*, planche CXXVII, à gauche).

Kuhner et Romagnesi *décrivent* ainsi *B. niveus* : « Blanc, typiquement nuancé de verdâtre mais ne devenant jamais brun même à la fin. Chair rosissant lentement et faiblement à l'air. Espèce relativement petite des tourbières à sphaignes sous des bouleaux différents du bouleau ordinaire ».

Singer donne trop de versions pour bien connaître *K. nivea* = *K. holopus*. Il en décrit la réaction comme gris bleuâtre, ce qui la rapproche de *leucophaeus*, puis il l'identifie avec l'espèce de Gilbert, que je connais bien, à réaction vert-jaune, et il pense aussi qu'elle est synonyme de celle de Fries !

H. Romagnesi, qui ne croit guère à l'espèce, m'a montré des exsiccata d'un champignon blanc, stipe élancé, récolté sous *Betulus pubescens*. Ces champignons avaient l'aspect de frêles *B. carpini* = *B. scaber*.

Pour ma part, je connais avec certitude deux *B. niveus*. Le premier, je l'ai récolté en grande abondance dans les Vosges en 1960, puis à Saint-Germain, puis revu au Muséum (Salon du Champignon de la même année). Ses réactions au sulfate de fer, (gris bleu, Séguy 509) formelles dans les trois cas, prouvent qu'il s'agit de la forme blanche de *B. leucophaeus* (*Atlas*, planche CXXVI, à droite). Le deuxième, provenant d'Yerres (Seine-et-Oise) et se rattachant par sa réaction en vert-jaune (Séguy 395) à *B. oxydabilis*, est bien celui que décrit Gilbert (*Atlas*, planche CXXVII, à gauche).

Si des expériences systématiques de réactions sont faites sur les formes blanches des *Krombholzia*, on ne tardera pas à reconnaître celles qui réagissent en bleu-vert au SO_4Fe et en rose-orangé par le formol, ce qui les

rattacherait à *B. carpini*, fermant ainsi le cercle. On ne pourra affirmer l'existence d'un *B. niveus* autonome que lorsqu'on connaîtra bien les formes colorées du sous-genre.

Il faut tout le prestige du grand Fries pour conserver si longtemps une valeur spécifique à un champignon qui quoique connu de tous, pourrait bien être une espèce fantôme. Pour ma part, je ne crois pas à un *K. nivea*, mais à des *niveae*, formes blanches d'autres *Krombholzia*.

On ne peut parler de *K. nivea* sans constater l'albinisme si fréquent de tout ce sous-genre. A part les deux formes blanches dont je suis absolument certain et desquelles je parle plus haut, j'ai récolté dans les Vosges, en 1960, un *B. crocipodius* tout blanc. J'en ai fait l'identification par les caractères suivants : tessellature d'une partie du chapeau, stipe radicant couvert d'aspérités fines et blanches ; enfin par une très petite tache jaune dans la chair du stipe.

D'autres formes blanches, appartenant à toutes les espèces du sous-genre *Krombholzia* seront retrouvées si l'on en fait la réaction systématique par SO_4Fe.

Quelles sont les causes de l'albinisme ? A mon sens, deux hypothèses sont à rejeter : 1°) un délavage par la pluie d'un champignon coloré ; il faudrait supposer une pigmentation soluble dans l'eau, ce qui n'est pas le cas ; 2°) une décoloration par la lumière solaire, mais la pigmentation ne saurait être aussi fugace.

Au contraire j'ai pu observer la poussée de jeunes carpophores pâles, presque blancs, et constater le virement de leur chapeau en une teinte plus foncée et ceci sous la pluie, ce qui paraît éliminer la thèse du délavage.

S'il faut faire une hypothèse, je me permets de croire à une absence totale ou relative de pigmentation dans des conditions écologiques, météorologiques ou chimiques particulières, plutôt qu'à l'existence d'un mycélium spécial ainsi que le propose Imler, fidèle à la notion de « variété ».

Il est évident que toutes les études sur des *Krombholzia* colorés ainsi que celles concernant les formes blanches ne sauraient être dissociées et nos confrères pourront en conclure que ce travail pose plus de questions qu'il n'en résout.

Boletus oxydabilis Singer

(*Atlas*, planche CXXVII).

Bibliographie. — Singer, *Revue de Mycologie*, t. III, fasc. 4-5 et fasc. 6, 1938.

Ce n'est pas une nouvelle espèce, mais elle est confondue avec *B. leucophaeus*. Pas rare mais localisée, *Boletus oxydabilis* Singer est presque un sosie de *B. leucophaeus* par l'immuabilité de sa chair, un aspect identique et le chapeau velouté. Il s'en écarte par une réaction chimique différente et par une tonalité plus noirâtre du chapeau.

La dénomination « oxydabilis » n'était pas heureuse pour désigner un champignon dans un sous-genre où tous les représentants s'oxydent dans un délai plus ou moins long et précisément pour une plante (la forme décrite ci-dessous) qui devrait plutôt s'appeler « immutabilis » !

Des réactions chimiques par le sulfate ferreux poursuivies depuis plusieurs années et aussi les précieuses indications de H. Romagnesi m'ont permis de retrouver cette espèce. Une variété sans doute, car les nombreuses diagnoses de l'auteur font penser à une espèce collective.

En faisant la comparaison des figures de l'*Atlas* que nous donnons ici on comprendra pourquoi ces deux espèces peuvent être confondues si l'on n'en éprouve pas la réaction.

Les formes noires ou noirâtres données par Gilbert comme limite à la couleur de *B. leucophaeus*, et qu'on retrouve dans toute sa littérature sur ce champignon, sont des formes qui relèvent certainement de *B. oxydabilis*. Longtemps fidèle aux descriptions de Gilbert, j'ai confondu les deux espèces ; *B. oxydabilis* était même à mon sens la forme typique de *B. leucophaeus* ; l'immuabilité de la chair semblait justifier cette façon de voir. Seule la réaction chimique au sulfate de fer m'a permis de séparer ces deux champignons. Mais une fois qu'on connaît bien *B. oxydabilis*, on le distingue facilement par son aspect noir et velouté. J'en donnerai ci-après une description provisoire.

Chapeau. — Large de 5 à 10 cm ; solitaire ou rarement par deux. Velouté plus visiblement et le restant plus longtemps que celui de *B. leucophaeus*. Brun noirâtre, à sépia foncé, ce qui n'est pas sans analogie avec la couleur de *B. aereus* (tête de nègre). Si celui-ci est le plus noir des *Boletus*, notre forme de *B. oxydabilis* est le plus noir des *Krombholzia*.

Pied. — Cylindrique, aminci au sommet, quelquefois allongé ou assez court et trapu, dans ce cas terminé en pointe, mais en tout cas de forme comparable à celle de tout le groupe et ne présentant aucun caractère distinctif. Squames gris foncé, à la fin noirâtres, assez fines, disposées en séries parallèles ou sur un vague réseau plus ou moins net. Marqué de taches vert émeraude ou bleues à la base mais pas toujours.

Chair. — Assez molle dans le chapeau, assez dure dans le stipe. Blanche à la coupe, restant plusieurs heures (10 h) de cette couleur puis virant en un rose orangé extrêmement pâle puis grisonnant, ou bien absolument blanche plus de 24 h.

Réaction au sulfate de fer. — Vert-jaune Séguy 395 en 10 minutes ; jamais en bleu ou vert foncé. *B. oxydabilis* est plus noir au début que *B. duriusculus*, de taille plus petite et à chair immuable.

Habitat. — Reconnu jusqu'ici en France : Dureil et Pincé (Sarthe) sous peupliers, chênes, pins, en terrains siliceux. Forêt de Tronçais (Allier) sous feuillus et pins mêlés. Coye la forêt (Oise) sous feuillus selon H. Romagnési. Espèce qui devrait se retrouver partout. Sans doute pas rare, mais localisée.

Les exsiccata de *B. oxydabilis* ont un aspect enfumé et noirâtre, le chapeau tout à fait noir velouté.

Caractères microscopiques. — Singer place *B. oxydabilis* entre *B. duriusculus* et *B. leucophaeus*, c'est-à-dire entre ceux dont les hyphes du revêtement du chapeau sont terminés en globes (sphérocystes) et ceux dont les hyphes se terminent par des poils (sans sphérocystes). Chez *B. oxydabilis* en effet, les hyphes se terminent par des poils dont quelques-uns seulement sont sphérocystés.

L'espèce que nous décrivons est loin de correspondre en tous points avec les descriptions de R. Singer. On comprendra que l'espèce décrite de Sibérie dans l'Altaï peut n'être pas tout à fait semblable à la nôtre. D'ailleurs, ce champignon est l'objet de plusieurs descriptions différentes de l'auteur. C'est donc probablement une espèce collective.

R. Singer écrit dans sa diagnose latine : *B. oxydabilis* spec. nov., grand champignon brun jaune à brun noirâtre, qui rougit *faiblement* à l'autoxydation. Puis il signale une forme *aberrans* à chair citrin pâle dans le chapeau et le haut du stipe, orangé à la cassure. Enfin il donne en comparaison et presque en synonymie *Boletinus solidipedis* Peck, espèce américaine qui correspond à *B. oxydabilis* mais s'en sépare par une chair immuable (*albida*) !

La forme noirâtre à chair immuable que je signale à l'attention des mycologues dépasse certainement l'habitat où je l'ai récolté.

Boletus leucophaeus

(*Atlas*, planche CXXVI).

La meilleure description de cette espèce est celle d'Imler (B.S.M., 1938, tome 54, fascicule 1, p. 55-59). C'est la première et la seule description qui apporte la certitude que l'on a affaire à *B. leucophaeus*. Elle indique la réaction chimique en gris bleu par le sulfate de fer et pas une fois le chapeau de ce champignon n'est décrit comme « noir ou noirâtre ».

La description de E. J. Gilbert et Leclair (B.S.M., 1942, tome 58, fascicules 3-4) est absolument muette quant à la réaction chimique au sulfate de fer proposée par Singer et Imler quatre années auparavant. Si Gilbert, mis en garde par ces auteurs, avait tenté la réaction chimique des carpophores noirs ou noirâtres dont il parle dans sa description, il aurait, je suppose, comme je l'ai fait moi-même, constaté une réaction bien différente de celle de *B. leucophaeus*. La description de Gilbert couvre donc deux espèces :

1° *B. leucophaeus*, chapeau velouté brun marron, brun noisette ; chair immuable ; réaction bleu gris par SO_4Fe ;

2° *B. oxydabilis* (Singer), chapeau velouté noir à brun noir et à fuligineux noirâtre ; chair immuable ; réaction vert jaune par SO_4Fe.

L'immuabilité de la chair est sans doute la cause déterminante de cette confusion, les auteurs s'étant fiés à ce caractère qu'ils croyaient propre à la seule espèce *B. leucophaeus*. Si on ne fait pas la réaction chimique de ces espèces, elles peuvent facilement être prises l'une pour l'autre.

Dans ces conditions on peut se demander si la confusion des deux espèces n'a pas contribué à embrouiller la littérature et même si *B. leucophaeus* n'a pas été décrit sur une forme de *B. oxydabilis* (Singer) ce qui est fort possible et paraît même vraisemblable pour répondre au qualificatif de « blanc-noir ». Il ne faut donc pas synonymiser les qualificatifs de sombre, obscur ou foncé, qui notent une saturation, avec celui de noirâtre qui exprime une couleur.

On se reportera utilement à la description d'Imler (B.S.M.F., 1938, tome 54, fasc. 1). Tout ce qu'a dit Gilbert sur *B. leucophaeus* est excellent à condition d'en supprimer le terme « noirâtre » s'appliquant au chapeau. Il convient également de faire les réserves qui s'imposent sur son interprétation des « icônes » en ce qui concerne la comparaison de couleur du chapeau de *B. leucophaeus* avec celui de tout autre Krombholzia. Enfin, aux couleurs du chapeau, après avoir supprimé le terme noirâtre, il convient d'ajouter « parfois tout blanc ».

A la notion toute relative de rareté, on peut dire de *B. leucophaeus* : le plus commun des Krombholzia. *Habitat* : se récolte partout sous des essences forestières très différentes dont il paraît s'accommoder facilement : peupliers, bouleaux, charmes, hêtres, chênes, conifères, ce qui n'influe en rien sur sa taille. *Réaction chimique* : quel que soit l'habitat, lorsqu'elles sont soumises à la réaction du sulfate de fer, les formes foncées ou blanches réagissent en gris bleu Séguy 509 en cinq minutes ; jamais en vert. Toute autre couleur par le même réactif ne concerne pas *B. leucophaeus*, même si la chair est immuable.

CLÉ PROVISOIRE DE DÉTERMINATION DE QUELQUES KROMBHOLZIA ET DE LEURS FORMES BLANCHES.

Sans réactif	Réaction au sulfate de fer	Teinte la plus foncée du chapeau	Revêtement piléique	Formes blanches
Chair restant immuablement blanche quelques heures après la coupe	Gris-bleu Séguy 509 (jamais verdâtre) en 5 mn	Velouté au début, presque glabre à la fin. Brun noisette à marron, jamais noirâtre. Un peu partout, surtout sous arbres à bois blanc. Le plus commun des Krombholzia. ***B. leucophaeus*** ss Gilbert (p p.)	Hyphes étroites, subégales, à extrémités amincies (pas toujours) mais non largement arrondies. A la fin, il faut les chercher, mais il en reste toujours.	Très commune. Réagit en gris bleu comme la forme type. C'est probablement celle de Konrad et Maublanc par ses cellules fibrilleuses et non globuleuses. C'est aussi la 1re forme décrite par Singer.
	Jaune-vert Séguy 395 en 10 mn	Sosie du précédent, mais paraît plus velouté et le reste plus longtemps. Noirâtre jeune, pouvant rappeler *B. aereus*. Habitat varié. ***B. oxydabilis*** Singer (n. f.)	Quelques sphérocystes. Hyphes assez inégales de dimensions variables, dépassant souvent 10 µ, ou portant une boule sphérique.	C'est *K. nivea* au sens de Gilbert. Réaction jaune-vert, comme *B. oxydabilis*.
Chair changeant de couleur de quelques secondes à quelques minutes après la coupe	?	Grosse espèce ; gris à gris terre d'ombre. Chair virant au rose, puis souvent en bleu à la base du stipe. Sous *Populus alba*. Méridional en France. Rare près de Paris. ***B. duriusculus*** Kalchbr.-Schulz.	Couche de sphérocystes sur le chapeau. (au sens de Singer).	Peut exister. A rechercher.
	Bleu-vert (Rose orangé par le formol au-dessus des tubes)	Chapeau glabre, gris livide à gris brun. Chair molle virant au rose violacé sale. Charmes, bouleaux. ***B. Carpini*** Schulzer	Articles terminaux courts et larges pseudo-parenchymatiques. (au sens de Kühn-Rom.).	Existe sans doute. Peut-être le *B. niveus* de Fries ?

Boletus (Krombholzia) **leucophæus**
(en 3 sa forme blanche)
et sa réaction gris bleu au sulfate ferreux

Boletus (Krombholzia) **niveus ?**
et sa réaction verte au sulfate ferreux

Boletus (Krombholzia) **oxydabilis,** Singer
et sa réaction verte au sulfate ferreux

FÉDÉRATION
des
Sociétés de Sciences naturelles

I. **FAUNE DE FRANCE,** publiée par l'Office central de Faunistique. — VOLUMES DISPONIBLES : *Diptères Anthomyides,* par SÉGUY. — *Pycnogonides,* par BOUVIER. — *Tipulides,* par PIERRE. — *Amphipodes,* par CHEVREUX et FAGE. — *Hyménoptères vespiformes,* par BERLAND, 3 vol. — *Diptères (Nématocères piqueurs),* par KIEFFER et SÉGUY, 2 vol. — *Diptères (Brachycères),* par SÉGUY, 2 vol. — *Diptères (Nématocères),* par GŒTHEBUER, 3 vol. — *Polychètes sédentaires,* par FAUVEL. — *Diptères (Pupipares),* par FALCOZ. — *Coléoptères (Cérambycides),* par PICARD. — *Mollusques opisthobranches,* par A. PRUVOT-FOL. — *Tardigrades,* par CUÉNOT. — *Diplopodes,* par BROLEMANN. — *Copépodes pélagiques,* par ROSE. — *Tuniciers,* par HERVÉ-HARANT et P. VERNIERES, 2 vol. — *Bryozoaires I,* par M. PRENANT et G. BOBIN. — *Homoptères Auchénorhynques,* par RIBAUT. — *Ixodoïdées,* par SENEVET. — *Diptères (Dolichopodidae),* par PARENT. — *Décapodes Marcheurs,* par BOUVIER. — *Hétéroptères aquatiques,* par R. POISSON. — *Bruchides et Anthribides,* par HOFFMANN. — *Reptiles et Amphibiens,* par ANGEL. — *Halacariens marins,* par ANDRÉ. — *Hyménoptères Tenthroïdes,* par BERLAND. — *Hydrocanthares,* par GUIGNOT. — *Lépidoptères Homoneures,* par VIETTE. — *Scolytides,* par BALACHOWSKY. — *Curculionides,* par HOFFMANN. — *Psélaphides,* par JEANNEL. — *Cumacés,* par FAGE. — *Plécoptères,* par DESPAX. — *Orthoptéroïdes,* par CHOPARD.

EN VENTE AUX ÉDITIONS PAUL LECHEVALIER

« SCIENCES NATURELLES »

12, rue de Tournon — PARIS VI^e^

qui, sur demande, enverront la liste détaillée de cette collection.

II. **ANNÉE BIOLOGIQUE.** — Comptes rendus des travaux de biologie générale.

III. **BIBLIOGRAPHIE DES SCIENCES GÉOLOGIQUES** (publiée par la Société géologique de France et la Société française de Minéralogie).

IV. **BIBLIOGRAPHIE BOTANIQUE** (publiée par la Société botanique de France), distribuée avec le Bulletin de cette Société.

V. **BIBLIOGRAPHIE AMÉRICANISTE,** publiée par la Société des Américanistes de Paris et distribuée avec son bulletin, le Journal de la Société des Américanistes.

VI. **BIBLIOGRAPHIE GÉOGRAPHIQUE** (publiée par l'Association des Géographes français et par la Société de Géographie).

AVIS TRÈS IMPORTANTS

Toutes les communications concernant le **Bulletin** devront être adressées au Secrétaire général, 16, rue Claude Bernard, Paris (V°).

La Société Mycologique rachèterait toute collection en bon état, ancienne ou d'une certaine étendue, de son Bulletin.

S'adresser au Secrétaire Général.

TARIF DES VOLUMES PUBLIÉS PAR LA SOCIÉTÉ

S'adresser au Secrétaire général, 16, rue Claude Bernard, Paris (V°), pour le Bulletin trimestriel.

EN VENTE A LA SOCIÉTÉ

Le Quarantenaire de la Société Mycologique de France, par M. le Dr Guétrot (1 vol., 412 p.). Prix : 1200 fr., soit 12 N.F. pour les Membres français de la Société, 1500 fr., soit 15 N.F. pour les membres étrangers (port compris).

Hyménomycètes de France, par MM. H. Bourdot et A. Galzin (1 vol., 720 p., 186 fig.). Prix : 5000 fr., soit 50 N.F. (4000 fr., soit 40 N.F. pour les Membres de la Société), port en plus.

Monographie des Tubéroïdées d'Europe, par M. Bataille. — Prix : 300 fr., soit 3 N.F.

Monographie des Hyménogastracées d'Europe, par M. Bataille. — Prix : 250 fr., soit 2,50 N.F.

S'adresser au Secrétaire général.

Printed in France.